




$$\text{ICPP Médit} = \frac{(\text{IC}_{\text{Péridinine}} + \text{IC}_{\text{Fucoxanthine}} + \text{IC}_{\text{Alloxanthine}} + \text{IC}_{\text{Prasinoxanthine}})}{4}$$

			
Dinoflagellés	Diatomées	Cryptophycées	Prasinophycées

Consolidation de l'indice de composition phytoplanctonique ICPP Médit pour les eaux côtières méditerranéennes

Rapport final

Action 1 du projet
« Indicateur de composition phytoplanctonique »

Anne GOFFART, Université de Liège

Avril 2019

Document réalisé dans le cadre de la
Convention de subvention ONEMA – Université de Liège relative au projet « Indicateur de
composition phytoplanctonique »

- **AUTEUR**

Anne GOFFART, Université de Liège, A.Goffart@uliege.be

- **CONTRIBUTEUR**

- **CORRESPONDANT**

Agence française pour la biodiversité : Maïa AKOPIAN, Maia.Akopian@afbiodiversite.fr

Droits d'usage : [par ex. accès libre ou accès réservé à XXX]

Niveau géographique : national

Couverture géographique : Méditerranée

Niveau de lecture : Professionnels et experts

Consolidation de l'indice de composition phytoplanctonique ICPP Médit pour les eaux côtières méditerranéennes

- **RESUME**

Lors d'un premier travail, nous avons élaboré l'indice de composition phytoplanctonique IC Médit 2014 à partir des données pigmentaires du phytoplancton des eaux côtières corses sur un jeu de données restreint. Dans cette étude, nous avons fait évoluer l'indice IC Médit 2014 en complétant le premier jeu de données par des données acquises dans des sites côtiers méditerranéens soumis à des forces de pression d'intensité croissante.

Le nouvel indice, ICPP Médit, est un indice multimétrique qui répond aux pressions et apporte des informations sur la saisonnalité des perturbations. Le protocole de calcul a été défini et la grille d'évaluation proposée. ICPP Médit a été conçu pour être robuste scientifiquement mais facile à mettre en œuvre par des acteurs ne disposant pas d'expertise spécifique en biodiversité et en écologie du phytoplancton. L'évaluation des incertitudes sur le classement des masses d'eau et/ou des sites échantillonnés, et l'éventuel ajustement de la grille, nécessitent l'acquisition de données complémentaires, idéalement sur un plan de gestion. Cependant, l'application croisée de l'ICPP Médit et de l'ICBC sur le jeu de données méditerranéen montre une bonne cohérence des classements issus de l'application des deux méthodologies, ce qui conforte les choix posés dans l'élaboration de l'indice ICPP Médit.

- **MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE)**

Phytoplancton, pigments, nutriments, pressions, indice de composition phytoplanctonique, ICPP Médit, DCE, Méditerranée, Corse.

Consolidation de l'indice de composition phytoplanctonique ICPP Médit pour les eaux côtières méditerranéennes

SYNTHESE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE

Lors d'un premier travail, nous avons élaboré l'indice de composition phytoplanctonique IC Médit 2014 à partir des données pigmentaires du phytoplancton des eaux côtières corses sur un jeu de données restreint (Goffart & Andral 2014). Dans cette étude, nous avons fait évoluer l'indice IC Médit 2014 en complétant le premier jeu de données par des données acquises dans des sites côtiers méditerranéens soumis à des forces de pression d'intensité croissante. L'évolution de l'indice IC Médit 2014 nous a amené à renommer notre indice « **ICPP Médit** » pour **Indice de Composition** basé sur les relations **Pressions / Pigments** adapté aux spécificités des eaux côtières de la **Méditerranée**. ICPP Médit est un indice multimétrique conçu pour être robuste scientifiquement mais facile à mettre en œuvre par des acteurs ne disposant pas d'expertise spécifique en biodiversité et en écologie du phytoplancton.

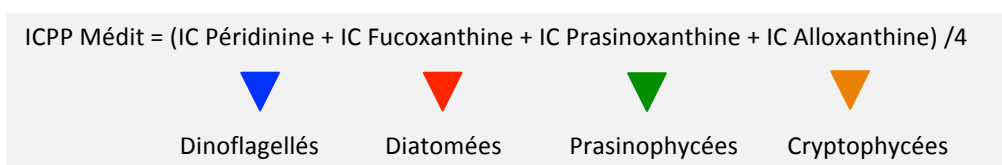
Les étapes successives permettant l'évaluation de la qualité de la composition phytoplanctonique par le nouvel indice ICPP Médit sont résumées ci-dessous.

1. Analyse des relations pigments / proxys de pression

Les pigments retenus pour construire l'indice de composition ICPP Médit sont ceux qui répondent positivement aux proxys de pression (corrélations de Spearman, $\rho \geq 0.45$, p value < 0.0001). Si un groupe est identifié par plusieurs pigments diagnostiques, le pigment retenu est celui qui répond le mieux aux pressions. Les analyses se font sur des jeux de données cohérents, acquis en milieux de référence et dans les sites à évaluer. Une fréquence d'échantillonnage hebdomadaire serait idéale pour le suivi des communautés phytoplanctoniques au cours d'un plan de gestion (6 ans). Cette fréquence implique cependant des coûts élevés de travail à la mer et d'analyses. Il nous semble dès lors plus réaliste de se limiter à un prélèvement tous les quinze jours. Il est par contre fondamental d'assurer la continuité des séries de mesures. Les données de nutriments et de composition pigmentaire doivent être acquises simultanément. Il serait utile d'intégrer la mesure systématique des nitrites dans les réseaux de mesures, puisque les pigments sont fortement corrélés aux variations de cette forme d'azote.

Dans notre étude, qui cible les eaux de type 3W et 3W Islands, les quatre pigments retenus sont la péridinine, la fucoxanthine, la prasinoxanthine et l'alloxanthine. En Méditerranée, ces pigments diagnostiques identifient respectivement les dinoflagellés photosynthétiques, les diatomées, les prasinophycées et les cryptophycées. En conséquence, l'indice de composition ICPP Médit est constitué de quatre sous-indices (Figure SO.1). Chaque sous-indice est associé à un pigment diagnostique qui répond aux pressions et dont la concentration est proportionnelle à la biomasse du groupe dont il est le traceur. Il convient néanmoins de garder à l'esprit que des traces de certains pigments (*e.g.* fucoxanthine) peuvent être observées dans d'autres groupes.

Figure SO.1. Représentation schématique de l'indice ICPP Médit.



2. Construction des courbes de référence

Les courbes de référence sont établies pour les stations de référence identifiées dans le cadre des suivis DCE (Belin et al. 2014).

Pour chaque pigment diagnostique retenu, une courbe de référence est construite. Cette courbe décrit l'évolution saisonnière de la limite très bon état / bon état du pigment considéré. Idéalement, les courbes sont construites à partir de données bi-mensuelles acquises sur une période glissante de 6 ans, soit la durée d'un plan de gestion. Chaque courbe comprend 12 valeurs (1 valeur par mois) obtenues en calculant le P_{90} mensuel des concentrations et en y ajoutant une marge de sécurité de 50%. Le cas échéant, un seuil minimum de 5 ng L⁻¹ est imposé pour permettre le calcul des sous-indices. Le principe des courbes de référence glissantes permet d'intégrer les éventuels effets des changements climatiques sur le long terme.

3. Calcul de l'indice de composition ICPP Médit, grille de qualité et classement des sites évalués

3.1 Pour chaque pigment retenu pour l'indice de composition ICPP Médit, un sous-indice est calculé. La Figure SO.2 et le Tableau SO.1 illustrent deux calculs d'EQR du sous-indice fucoxanthine.

- Comparer les concentrations en pigments mesurées dans les sites à évaluer aux valeurs de référence en respectant la temporalité (*i.e.* comparer les mesures et la valeur de référence du même mois);
- Calculer la fréquence (%) des écarts à la référence et l'importance des dépassements (%) pendant la période d'observation;
- Calculer les IC scores en appliquant la formule ci-dessous :
$$\text{IC score} = (\text{fréquence des dépassements} \times \text{dépassement moyen relatif}) / 1000;$$
- Transformer les IC scores ≤ 20 en EQR en appliquant la formule :
$$\text{EQR} = 1 - (0.050 \times \text{IC score});$$
 un IC score > 20 correspond à un EQR de 0. Le seuil de 20 a été défini sur base de notre connaissance du terrain.

Un nombre élevé de dépassements et/ou des dépassements importants mettent en évidence des concentrations anormalement élevées en pigment diagnostique, et donc une composition floristique altérée. A l'inverse, une majorité de mesures inférieures aux concentrations de référence montre que l'abondance du groupe considéré, identifié par son pigment diagnostique, ne se distingue pas de celle de la masse d'eau de référence associée.

3.2 Répéter les étapes du point 1 pour tous les pigments retenus.

3.3 Calculer l'indice de composition final : L'EQR final est la moyenne arithmétique des EQRs des sous-indices. L'indice de composition ICPP varie de 0 (composition phytoplanctonique très dégradée) à 1 (composition phytoplanctonique en très bon état).

3.4 Confronter les valeurs de l'ICPP Médit à la grille de qualité établie pour la Méditerranée (Figure SO.3).

Figure SO.2. Positionnement des concentrations en fucoxanthine des points Sant'Amanza In (2012-2013) et Tamarone (2017) par rapport à la courbe de référence associée (Sud Bastia, 2012-2017).

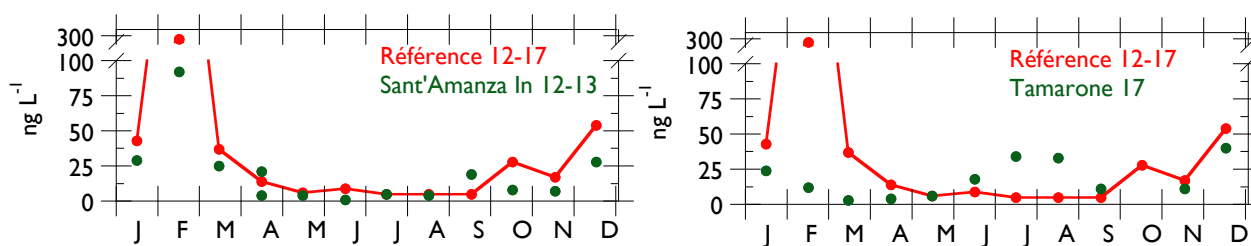


Tableau SO.1. Calcul du sous-indice fucoxanthine pour les points Sant'Amanza In et Tamarone.

Site	Nombre de données	Nombre de dépassements	Fréquence des dépassements %	Dépassement moyen %	IC score fucoxanthine	EQR fucoxanthine
Sant'Amanza In	13	2	15	165	2.48	0.88
Tamarone	11	5	45	278	12.51	0.37
(dont 1 faible dépassement en mai)						

Aucune étude ne définit, en termes écologiques, ce qu'est une « composition phytoplanctonique moyenne ». Dès lors, Nous avons établi notre grille de qualité sur base de notre connaissance du terrain, et de ce que nous considérons comme très bonne et mauvaise compositions phytoplanctoniques pour la zone d'étude. Nous avons ensuite fixé les bornes des différents états, en vérifiant la cohérence des classements obtenus avec notre expertise (Figure SO.3).

Figure SO.3. Grille de qualité pour les indices et sous-indices ICPP Médit.

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
ICPP Médit	1 0.90	0.70	0.50	0.20	0

Des coefficients corrélations élevés, compris entre -0.52 et -0.80, sont obtenues entre l'indice ICPP Médit et ses sous-indices et les nutriments moyennés sur les périodes d'études (Tableau SO.2), ce qui montre par la bonne sensibilité de notre indice aux pressions.

Tableau SO.2. Matrice de corrélation de Spearman (rho) entre les proxys de pression en Méditerranée moyennés sur les périodes d'étude et l'indice de composition phytoplanctonique ICPP Médit et ses sous-indices - : non significatif; $\alpha = 0.05$.

	NO3 μM	NO2 μM	NH4 μM	DIN μM
ICPP Médit	-	-	-0.74	-0.52
IC Allo	-	-0.52	-	-
IC Péri	-	-0.61	-0.69	-
IC Fuco	-	-	-0.80	-
IC Prasino	-	-	-0.52	-

Enfin, et au-delà de la caractérisation de la qualité de la composition phytoplanctonique, l'ICPP Médit fournit des informations sur la saisonnalité des perturbations. En cela, il peut apporter des informations complémentaires utiles aux gestionnaires de l'environnement côtier. Dans l'exemple de la Figure SO.2, les concentrations en fucoxanthine sont situées sous la courbe de référence de janvier

à avril, puis elles passent au-dessus de la courbe de mai à septembre, pendant la saison estivale. D'octobre à décembre, elles repassent sous la référence. Les écarts les plus importants sont observés en juillet et en août, ce qui est probablement à mettre en relation avec une fréquentation accrue de la plage et du mouillage forain.

L'évaluation des incertitudes sur le classement des masses d'eau et/ou des sites échantillonnés, et l'éventuel ajustement de la grille, nécessitent l'acquisition de données complémentaires, idéalement sur un plan de gestion. Cependant, l'application croisée de l'ICPP Médit et de l'ICBC développé par Lampert et Hernandez-Fariñas (2018) sur le jeu de données méditerranéen montre une bonne cohérence des classements issus de l'application des deux méthodologies, ce qui conforte les choix posés dans l'élaboration de l'indice ICCP Médit. Les développements de la comparaison ICCP Médit / ICBC sont présentés dans Goffart 2019.

Belin, C., Lamoureux, A., Soudant, D., 2014. Evaluation de la qualité des eaux littorales de la France métropolitaine pour l'élément de qualité Phytoplancton dans le cadre de la DCE. Etat des lieux des règles d'évaluation, et résultats pour la période 2007-2012. Tome 1 - Etat des lieux, méthodes et synthèse des résultats. Rapport DYNECO / VIGIES / 14-05 – Tome 1, 159 pp.

Goffart, A., 2019. Evaluation croisée de la composition phytoplanctonique des eaux côtières métropolitaines par les indices ICCP et ICBC. Rapport final de l'action 2 du projet « Indicateur de composition phytoplanctonique ». Convention de subvention ONEMA - Université de Liège, 25 pp.

Goffart, A., Andral, B., 2014. Validation de l'indice composition IC Médit dans des masses d'eau côtières méditerranéennes caractérisées par un gradient croissant d'eutrophisation. Rapport final de convention, action Indice de composition. IFREMER et ONEMA, France, 33 pp.

Lampert, L., Hernandez-Fariñas, T., 2018. Détermination d'un indice de composition phytoplanctonique pigmentaire pour les eaux de la Manche et de l'Atlantique (DCE) - Rapport final - Action ONEMA - IFREMER n°24. Brest, France. 66 pp.

• **SOMMAIRE**

Résumé	3
Mots clés.....	3
Synthèse pour l'action opérationnelle	4
1. Introduction	9
2. Chémotaxonomie : avantages et limitations	9
3. Rappel des travaux antérieurs sur l'indice de composition IC Médit 2014 et objectifs de l'étude	14
4. Zone d'étude et présentation succincte de la stratégie d'échantillonnage en Méditerranée	14
4.1 Cadre général	14
4.2 Points de prélèvements, jeu de données et méthodes d'analyse	16
5. Indice de composition ICPP Médit	22
5.1 Relations pressions / impacts et sélection des pigments à intégrer à l'indice de composition ICPP Médit	22
5.1.1 Relations pressions / impacts en milieu de référence : exemple de Calvi	22
5.1.2 Relations pressions / impacts sur l'ensemble du jeu de données Méditerranée	24
5.2 Sites de référence et caractéristiques pigmentaires	25
5.3 Construction des courbes de référence	27
5.4 Calcul de l'indice de composition ICPP Médit, grille de qualité et classement des sites évalués	28
5.5 Réponse de l'ICPP Médit aux proxys de pression	31
6. Conclusions	32
7. Bibliographie	32
8. Table des illustrations.....	35
9. Remerciements	37
10. Glossaire.....	37

1. INTRODUCTION

La DCE exige que l'évaluation de l'état écologique des masses d'eau littorales passe par des indicateurs biologiques, dont certains ciblent spécifiquement le phytoplancton, avec trois paramètres : la biomasse, l'abondance et la composition. Un premier travail soutenu par l'ONEMA et réalisé par l'Université de Liège a montré que les pigments diagnostiques mesurés par HPLC constituent de bons outils pour détecter les changements de composition phytoplanctonique en réponse aux pressions rencontrées dans les eaux côtières corses (Goffart & Andral 2014). Les recherches ont abouti au développement d'un nouvel indice de composition phytoplanctonique (IC Médit 2014), basé sur la signature pigmentaire des communautés phytoplanctoniques et adapté aux spécificités des eaux côtières corses.

Le projet « Indicateur de composition phytoplanctonique » vise à conforter le travail sur des sites ayant des pressions diverses et pour diverses catégories de masses d'eau, afin d'en faire un véritable indicateur DCE. Le projet comprend trois actions :

1. Le premier point vise à **consolider le travail de définition de l'indice composition** IC Médit 2014 sur des sites méditerranéens récemment échantillonnés et caractérisés par des pressions diverses. Cette action, qui se base sur une approche chémotaxonomique, a abouti à la définition de l'indice **ICPP Médit**. Elle fait l'objet de **ce rapport**.
2. Le deuxième point a objectif d'adapter et d'appliquer les indices de composition développés en Méditerranée (ICPP Médit) et en Manche-Atlantique (ICBC) aux trois façades métropolitaines dans le but de comparer les résultats obtenus en terme de classification des sites évalués par les deux méthodes (Goffart 2019a). Cette action est réalisée en collaboration avec Luis Lampert (IFREMER de Brest).
3. Le travail comporte également une action pour la validation d'une méthode de détermination de la composition phytoplanctonique des eaux côtières depuis l'espace (Goffart 2019b). Cette action est réalisée en collaboration avec Sylvain Coudray (IFREMER de La Seyne-sur-Mer).

2. CHEMOTAXONOMIE : AVANTAGES ET LIMITATIONS

La chémotaxonomie est un système d'identification et de classement des organismes photosynthétiques sur base de leur composition biochimique. Les pigments phytoplanctoniques (chlorophylles, caroténoïdes, xanthophylles, phycobiliprotéines) et d'autres molécules, comme celles associées à l'essor de l'industrie pharmaceutique (e.g. alcaloïdes : codéïne, quinine, morphine, ...) figurent parmi les composés utilisés en chémotaxonomie (Jeffrey et al. 1997, Singh 2016).

A partir de 1980, le développement spectaculaire des méthodes de séparation et de quantification des pigments par HPLC (e.g. Mantoura and Llewellyn 1983) et l'introduction de la chémotaxonomie pigmentaire en océanographie ont permis de découvrir des groupes, dont les prochlorophytes, que les techniques de prélèvement et de conservation utilisées précédemment ne permettaient pas d'observer (e.g. Jeffrey et al. 1997 et références dans l'ouvrage).

Aujourd'hui, grâce aux nombreuses études réalisées depuis une trentaine d'années sur des cultures et en conditions naturelles, la chémotaxonomie pigmentaire permet de distinguer les grands groupes phytoplanctoniques présents dans les différentes régions de l'Océan mondial. Concrètement, les chlorophylles et les caroténoïdes sont séparés et quantifiés par HPLC. La présence de pigments spécifiques (biomarqueurs) permet ensuite d'identifier les groupes phytoplanctoniques présents et de quantifier leurs biomasses respectives.

La chlorophylle *a* (chl *a*) est présente dans tous les groupes phytoplanctoniques, à l'exception des prochlorophytes où elle est remplacée par la divinyl-chlorophylle *a* (DV-chl *a*). La mesure de la chlorophylle *a* totale (Tchl *a* = chl *a* + DV-chl *a*) permet de déterminer la biomasse phytoplanctonique totale. Les autres chlorophylles absorbent des longueurs d'onde différentes de celles absorbées par la chl *a*. La divinyl-chlorophylle *b* (DV-chl *b*) est observée chez les prochlorophytes. Les autres chlorophylles sont présentes dans plusieurs groupes (Tableau 1).

Les caroténoïdes, dont la nature varie d'un groupe phytoplanctonique à l'autre, sont utilisés pour caractériser la composition taxonomique du phytoplancton total. Certains pigments diagnostiques sont spécifiques d'un groupe taxonomique, alors que d'autres peuvent être observés dans deux ou trois groupes (Tableau 2). Par exemple, la péricidine est un traceur spécifique des dinoflagellés photosynthétiques, alors que la fucoxanthine, dominante chez les diatomées, se trouve aussi chez les pélagophycées méditerranéennes (Marty et al. 2008, Latasa et al. 2010) et chez les prymnesiophycées de la Mer du Nord et de l'Antarctique (Zapata et al. 2004). Pour une région déterminée, il est donc fondamental de connaître les groupes phytoplanctoniques présents et leur composition pigmentaire avant d'associer un pigment diagnostique à un groupe ou plusieurs groupes.

Tableau 1. Message taxonomique apporté par les chlorophylles du phytoplancton marin, d'après l'ouvrage de référence de Roy et al. 2012. * : chlorophylles utilisées dans cette étude.

Chlorophylles	Abréviations	Message taxonomique
Chlorophylle <i>a</i> totale	Tchl <i>a</i>	* Biomasse autotrophe totale
Chlorophylle <i>a</i>	Chl <i>a</i>	* Biomasse autotrophe totale sauf prochlorophytes
Divinyl-chlorophylle <i>a</i>	Dv-chl <i>a</i>	* Prochlorophytes
Chlorophylle <i>b</i>	Chl <i>b</i>	Prasinophycées, chlorophycées, euglénophycées
Divinyl-chlorophylle <i>b</i>	Dv-chl <i>b</i>	Prochlorophytes
Chlorophylle <i>b</i> totale	Tchl <i>b</i>	* Prasinophycées, chlorophycées, euglénophycées, prochlorophytes
Chlorophylle <i>c2</i>	Chl <i>c2</i>	Diatomées, silicoflagellés, pélagophycées, prymnésiohycées (= haptophycées), cryptophycées, dinoflagellés
Chlorophylle <i>c3</i>	Chl <i>c3</i>	Diatomées, prymnesiophycées (= haptophycées) de types Hapto-4 à Hapto-8, dinoflagellés de type Dino-2

L'approche chémotaxonomique basée sur la mesure des pigments phytoplanctoniques par HPLC fournit des informations sur la présence et l'abondance tous les groupes phytoplanctoniques présents dans un échantillon, indépendamment des classes de taille. Les petites cellules, qui ne peuvent pas être identifiées au microscope, et les cellules qui supportent mal la fixation sont prises en compte grâce à leur contenu pigmentaire. Le niveau d'information taxonomique obtenu est suffisant pour rencontrer les besoins de la DCE et de la DCSMM et la rapidité des mesures (40 minutes pour une analyse pigmentaire complète) permet de traiter de grandes séries d'échantillons dans des délais rapprochés. Néanmoins, la chémotaxonomie ne permet pas d'aller jusqu'à l'espèce et ne se substitue pas aux dénombrements de flore utiles par exemple lorsque l'on recherche la présence d'espèces toxiques.

Tableau 2 (page suivante). Message taxonomique apporté par les caroténoïdes du phytoplancton marin utilisés dans cette étude, d'après l'ouvrage de référence de Roy et al. (2012).

Caroténoïdes	Abréviations	Message taxonomique	Exemples de taxon
<i>Couleurs des pigments</i>			
Péridinine <i>Rouge brique</i>	Peri	Dinoflagellés photosynthétiques de type Dino-1	<i>Ceratium</i> sp., <i>Amphidinium</i> sp.
Butanoyloxyfucoxanthine <i>Jaune-orange</i>	Buta	Pélagophycées	<i>Hemiselmis</i> sp., <i>Rhodomonas</i> sp., <i>Pelagomonas</i> sp.
Hexanoyloxyfucoxanthine <i>Orange</i>	Hexa 19'HF	Prymnesiophycées (= haptophycées) de type Hapto-6 et Hapto-8	<i>Emiliana huxleyi</i> (Hapto-6), <i>Phaeocystis pouchetii</i> (Hapto-8)
Cis-néoxanthine <i>Jaune</i>	Neo	Prasinophycées Chlorophycées	<i>Tetraselmis</i> sp., <i>Pycnococcus</i> sp., <i>Micromonas</i> sp., <i>Ostreococcus</i> sp., <i>Halosphaera viridis</i> . <i>Dunaliella</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp.
Prasinoxanthine <i>Rosé foncé</i>	Prasino	Prasinophycées de type Prasino-3A et Prasino-3B	<i>Pycnococcus provasolii</i> (3A), <i>Micromonas pusilla</i> (3B), <i>Halosphaera</i> <i>viridis</i> .
Violaxanthine <i>Jaune</i>	Viola	Prasinophycées, chlorophycées Dinoflagellés de type Dino-5 (dinoflagellés contenant des prasinophycées endosymbiontes)	<i>Voir plus haut</i> <i>Gymnodinium chlorophorum</i>
Fucoxanthine <i>Orange</i>	Fuco	Diatomées Prymnesiophycées (= haptophycées) Silicoflagellés (= dictyophycées) Pélagophycées	<i>Chaetoceros</i> sp., <i>Thalassiosira</i> sp. <i>Emiliana huxleyi</i> , <i>Phaeocystis</i> <i>pouchetii</i> , <i>Chrysochromulina</i> sp. <i>Dictyocha</i> sp. <i>Voir plus haut</i>
Alloxanthine <i>Jaune-orange</i>	Allo	Cryptophycées	<i>Plagioselmis</i> sp., <i>Chroomonas</i> sp., <i>Cryptomonas</i> sp.
Zéaxanthine <i>Jaune-orange</i>	Zea	Cyanobactéries Euglénophycées Prasinophycées Chlorophycées	<i>Synechococcus</i> sp., prochlorophytes <i>Euglena gracilis</i> <i>Voir plus haut</i> <i>Voir plus haut</i>
Lutéine <i>Jaune</i>	Lut	Prasinophycées de type 1et 2B Chlorophycées	<i>Pyramimonas amyliifera</i> , <i>Nephroselmis pyriformis</i> . <i>Voir plus haut</i>

La première méthode pour identifier les groupes phytoplanctoniques à partir de leur signature pigmentaire consiste à relier linéairement les concentrations en pigments diagnostiques aux concentrations des groupes présents (1 pigment par groupe). Dans cette approche, chaque pigment retenu est utilisé comme traceur direct de l'abondance du groupe correspondant, sans transformation des mesures après analyse. Ainsi, une concentration élevée en alloxanthine indique la présence de cryptophycées, dont l'abondance est directement proportionnelle à la concentration en pigment traceur. Cette méthode a été utilisée par de nombreux auteurs (*e.g.* Claustre et al. 1994, Bustillos-Guzman et al. 1995, Goffart et al. 2002) dans tous les océans du monde. Elle présente les avantages d'être rapide et reproductible et de pouvoir être mise en œuvre dans des laboratoires qui maîtrisent les techniques HPLC, mais ne sont pas spécialisés en écologie du phytoplancton. Par contre, elle ne permet pas d'exprimer les biomasses des différents groupes en unités de chlorophylle *a* et n'intègre pas le fait que certains pigments diagnostiques se trouvent dans plusieurs groupes taxonomiques.

Une seconde méthode utilise des rapports pigmentaires présents dans la littérature (chl *a* / pigment diagnostique) pour calculer la contribution d'un (des) groupe(s) phytoplanctonique(s) à la biomasse totale (Figure 1). Dans l'exemple de la Figure 1, la concentration en chl *a* attribuée aux cryptophycées serait égale à la concentration en alloxanthine multipliée par 3.34. D'autres auteurs (*e.g.* Bustillos-Guzman et al. 1995, Vidussi et al. 2000) utilisent des régressions multiples pour établir une équation permettant de calculer la biomasse des différents groupes présents (Figure 2). Outre le fait que cette approche ne considère qu'un pigment par groupe, elle n'intègre pas la variation spatiale et temporelle des rapports chl *a* / pigment diagnostique, qui diffèrent en fonction des zones étudiées, des saisons et des conditions environnementales. A titre d'exemple, les rapports chl *a* / alloxanthine des cryptophycées méditerranéennes varient de 1.35 à 4.38 (Marty et al. 2002, Latasa et al. 2010, Goffart et al. submitted).

Figure 1. Exemples de rapports chl *a* / pigment diagnostique pour la Méditerranée occidentale (d'après Claustre et al. 1994).

Diagnostic pigment	Organisms	Chlorophyll <i>a</i> Diagnostic pigment (g/g)
zeaxanthin ^{1,2}	Cyanobacteria	2.00 ¹⁴
fucoxanthin ^{3,4,5,6,7,8}	Diatoms	1.25 ¹⁵
peridinin ⁹	Dinoflagellates	2.50 ¹⁶
alloxanthin ¹⁰	Cryptophytes	3.34*
19'-HF (§) and 19'-BF (£) ^{3,4,5,6,7,11,12}	chlorophyll <i>c</i> - containing nanoflagellates	0.75 ^{15,16}
chlorophyll <i>b</i> ¹³	green flagellates	0.70 ¹⁶

Une méthode plus complexe, CHEMTAX (CHEMICAL TAXonomy; Mackey et al. 1996), permet d'évaluer la biomasse des différents groupes sur base de plusieurs pigments par classe d'algues. CHEMTAX est un logiciel statistique basé sur une analyse numérique multi-matricielle visant à ajuster les rapports pigmentaires (Tableau 3). Le grand avantage de CHEMTAX est de permettre de distinguer des groupes qui ont des compositions pigmentaires proches. Sa mise en œuvre requiert cependant une expertise élevée en écologie du phytoplancton et est réservée à des fins de recherche. De plus, le traitement statistique des données comprend plusieurs étapes manuelles, ce qui alourdit considérablement le traitement des résultats.

Figure 2. Exemples d'équations permettant le calcul de la contribution respective des différents groupes phytoplanctoniques à la biomasse totale en Méditerranée. D'après A : Bustillos-Guzmán et al. (1995) et B : Vidussi et al. (2000).

A

$$\begin{aligned}
 &[\text{Chlorophyll } a + \text{divinyl chlorophyll } a] = 2.86 \\
 &+ 1.05 [19'\text{-BF} + 19'\text{-HF}] + 1.24 [\text{chlorophyll } b] \\
 &+ 1.84 [\text{fucoxanthin}] + 3.34 [\text{alloxanthin}] \\
 &+ 2.25 [\text{peridinin}] + 0.83 [\text{zeaxanthin}] \\
 &+ [\text{divinyl chlorophyll } a]; (r^2 = 0.82; p < 0.01).
 \end{aligned}$$

B

$$\begin{aligned}
 \text{Tchl } a = (\text{chl } a + \text{Dv-chl } a) = &3.82 + 0.68(19'\text{-HF} + 19'\text{-BF}) + 1.07(\text{fucoxanthin}) \\
 &+ 1.32(\text{zeaxanthin}) + 3.34(\text{alloxanthin}) + 0.70(\text{chlorophyll } b) \\
 &+ 2.50(\text{peridinin}) + \text{Dv-chl } a.
 \end{aligned} \quad (1)$$

Tableau 3. Matrices des rapports pigment / chl *a* optimisées par CHEMTAX pour des échantillons de phytoplancton méditerranéen. D'après Latasa et al. (2010).

Output matrices of pigment to chl *a* ratios obtained from CHEMTAX for the surface samples of the different periods. Chl *c*₂: chlorophyll *c*₂; Per: peridinin; 19'But: 19'-butanoyloxyfucoxanthin; Fuco: fucoxanthin; Pras: prasinoxanthin; 19'Hex: 19'-hexanoyloxyfucoxanthin; Allo: alloxanthin; Zea: zeaxanthin; Chl *b*: chlorophyll *b*. -: pigment not present in phytoplankton group

	Chl <i>c</i> ₂	Per	19'But	Fuco	Pras	19'Hex	Allo	Zea	Chl <i>b</i>
Cryptophyceae									
Bloom	0.36	–	–	–	–	–	0.62	–	–
Post-bloom	0.30	–	–	–	–	–	0.67	–	–
Stratification	0.37	–	–	–	–	–	0.74	–	–
Bacillariophyceae									
Bloom	0.36	–	–	0.75	–	–	–	–	–
Post-bloom	0.12	–	–	0.87	–	–	–	–	–
Stratification	0.22	–	–	0.70	–	–	–	–	–
Dinophyceae									
Bloom	0.38	0.65	–	–	–	–	–	–	–
Post-bloom	0.52	0.38	–	–	–	–	–	–	–
Stratification	0.31	0.71	–	–	–	–	–	–	–
Prymnesiophyceae									
Bloom	0.23	–	–	0.17	–	0.72	–	–	–
Post-bloom	0.18	–	–	0.28	–	0.42	–	–	–
Stratification	0.22	–	–	0.03	–	1.01	–	–	–
Pelagophyceae									
Bloom	0.45	–	0.78	0.27	–	–	–	–	–
Post-bloom	0.16	–	0.90	0.31	–	–	–	–	–
Stratification	0.27	–	0.97	0.03	–	–	–	–	–
Prasinophyceae									
Bloom	–	–	–	–	0.12	–	–	–	0.40
Post-bloom	–	–	–	–	0.09	–	–	–	0.58
Stratification	–	–	–	–	^a	–	–	–	0.79
<i>Synechococcus</i> spp.									
Bloom	–	–	–	–	–	–	–	0.63	–
Post-bloom	–	–	–	–	–	–	–	0.66	–
Stratification	–	–	–	–	–	–	–	0.72	–

^aConcentrations of prasinoxanthin were too low to be included in the analyses

Sur base des avantages et des inconvénients des 3 méthodes décrites ci-dessous, nous avons retenu la première méthode, qui nous paraît adaptée au développement d'indices phytoplanctoniques. Dans cette étude, comme dans le travail précédent (Goffart & Andral 2014) nous ***travaillerons avec les concentrations en pigments*** mesurés par HPLC, et les relierons directement à l'abondance des groupes associés. C'est aussi le choix qui a été fait par Alvain et al. (2008) pour établir des cartes de distribution spatio-temporelle des principaux groupes phytoplanctoniques à partir de l'imagerie satellitaire et par Lampert (2015) et Lampert & Hernandez-Fariñas (2018) en Manche-Atlantique.

3. RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS SUR L'INDICE DE COMPOSITION IC MEDIT 2014 ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'indice de composition phytoplanctonique IC Médit 2014 a été conçu à partir des données pigmentaires du phytoplancton des eaux côtières corses où, contrairement à beaucoup de régions, les conditions de référence sont bien connues mais les forces de pressions rencontrées sont généralement faibles et limitées spatialement et/ou temporellement (Goffart & Andral 2014).

L'indice IC Médit 2014 est composé de 5 sous-indices. Chaque sous-indice est associé à un pigment diagnostique dont la concentration est proportionnelle à l'abondance du groupe phytoplanctonique dont il est le traceur. Les pigments retenus, qui répondent aux proxys de pression, sont la péridinine, la fucoxanthine, l'alloxanthine, la prasinoxanthine et la zéaxanthine. Ces pigments diagnostiques identifient respectivement les dinoflagellés, les diatomées, les cryptophycées, les prasinophycées et les cyanobactéries. Si un groupe est identifié par plusieurs pigments diagnostiques, le pigment retenu est celui qui répond le mieux aux pressions.

Pour chaque pigment retenu, une courbe de référence décrit l'évolution saisonnière de la limite très bon état / bon état. Elle est construite à partir des données haute fréquence du (des) site(s) de référence et est assortie d'une marge de sécurité qui intègre la variabilité interannuelle des communautés. Si toutes les mesures sont inférieures aux valeurs de la courbe de référence, la composition floristique du site à évaluer ne se distingue pas de celle de la masse d'eau de référence associée. Par contre, un nombre élevé de dépassements met en évidence des concentrations anormalement élevées en pigment diagnostique, et donc une composition floristique altérée.

Le but de cette action est de faire évoluer et de valider l'indice de composition phytoplanctonique IC Médit 2014 en complétant le jeu de données disponibles par les résultats de mesures ciblées réalisées au cours de l'étude dans des sites côtiers méditerranéens soumises à des forces de pression d'intensité croissante. Des seuils seront définis et des grilles de qualité seront proposées.

Dans ce travail, l'évolution de l'indice IC Médit 2014 nous a amené à renommer notre indice « **ICPP Médit** » pour **Indice de Composition** basé sur les relations **Pressions / Pigments** adapté aux spécificités des eaux côtières de la **Méditerranée**.

4. ZONE D'ETUDE ET PRESENTATION SUCCINCTE DE LA STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE EN MEDITERRANEE

4.1 Cadre général

Le bassin Rhône Méditerranée et Corse s'étend de la frontière espagnole à la frontière italienne en englobant le littoral Corse.

Au niveau européen, les eaux côtières du bassin Rhône Méditerranée et Corse sont divisées en quatre écotypes : les écotypes de type 1 (e.g. golfe de Fos), 2A (e.g. Côte bleue), 3W (e.g. Iles du soleil) et 3W Islands (Corse). La salinité est un des critères importants qui permet de distinguer les écotypes.

Au niveau national, le groupe de travail « DCE littoral Rhône Méditerranée » a établi une division plus fine, qui définit 9 types de masses d'eau côtières (Tableau 4, Figure 3). La profondeur moyenne est très discriminante : la côte occidentale corse et la Côte d'Azur sont caractérisées par un plateau continental très étroit, alors la côte orientale corse et le golfe du Lion présentent un plateau continental large ou très large. Finalement, 47 masses d'eau côtières ont été définies pour le bassin Rhône Méditerranée et Corse.

Cette étude cible les eaux côtières corses (écotype 3W Islands) et les masses d'eau continentales attachées à l'écotype 3W et caractérisées une salinité annuelle moyenne > 37.5.

Tableau 4. Types de masses d'eau présents en Rhône Méditerranée et Corse.

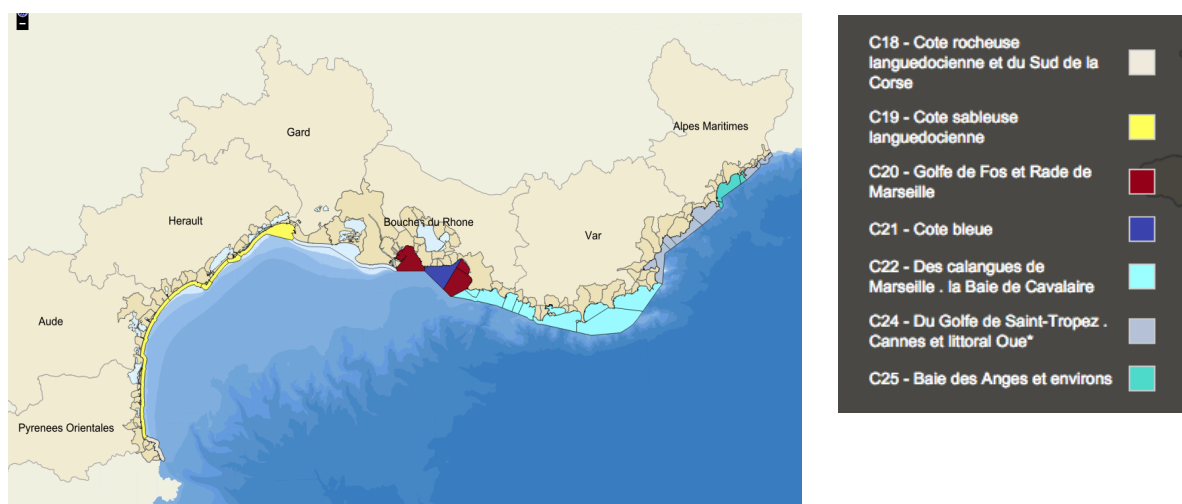
Source : http://envlit.ifremer.fr/surveillance/directive_cadre_sur_l_eau_dce/la_dce_par_bassin/bassins_rhone_mediterranee_et_corse/fr/typologie

C18	Côte rocheuse languedocienne et du sud de la Corse
C19	Côte sableuse languedocienne
C20	Golfe de Fos et rade de Marseille
C21	Côte Bleue
C22	Des calanques de Marseille à la baie de Cavalaire
C23	Littoral nord-ouest de la Corse
C24	Du golfe de Saint-Tropez à Cannes et littoral ouest de la Corse
C25	Baie des Anges et environs
C26	Côte sableuse est de la Corse

Figure 3. Masses d'eau du bassin Rhône Méditerranée et Corse.

Sources : http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/atlas_DCE/scripts/site/carte.php?map=PMC

http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/atlas_DCE/scripts/site/carte.php?map=PMCC



4.2 Points de prélèvements, jeu de données et méthodes d'analyse

Peu de masses d'eau côtières méditerranéennes font l'objet d'un suivi de la composition pigmentaire du phytoplancton. En 2017, cette étude a permis l'acquisition de nouvelles données (composition pigmentaire du phytoplancton et sels nutritifs) au niveau de 5 sites situés sur la côte orientale corse et de 3 sites situés en région PACA, à proximité de Toulon (Tableau 5). Les prélèvements du point Sud Bastia sont réalisés sans interruption depuis 2015. L'échantillonnage des sites situés en région PACA a débuté en 2016. L'échantillonnage a été réalisé par Anne Goffart et par l'IFREMER (Tableau 6).




Afin de disposer d'un jeu de données plus important, nous avons mis à disposition du projet les données acquises lors de suivis antérieurs et de plusieurs projets de recherche au cours de la période 2009 - 2015. Le jeu de données total comprend 15 sites : 5 sites sur la côte occidentale corse, 7 sites sur la côte orientale corse et 3 sites en région PACA (Figure 4, Tableaux 5 et 6).

Les sites ont été échantillonnés sur une base mensuelle, sauf le site de Calvi, qui a fait l'objet d'un suivi haute fréquence (2 prélèvements par semaine) entre 2009 et 2014 (Tableau 5). Dans certains cas, la fréquence d'échantillonnage mensuel n'a pu être respectée (conditions météorologiques défavorables, changement de personnel, perte des échantillons, ...). Cette étude repose sur l'analyse couplée des données de nutriments et de composition pigmentaire acquises simultanément. Un total de 744 paires des données nutriments / composition pigmentaire a été traité (côte occidentale corse : 583 paires données dont 538 pour Calvi, côte orientale corse : 121 paires de données, région PACA : 40 paires de données).

Tableau 5. Evolution de l'échantillonnage simultané des sels nutritifs et des pigments pour les 15 sites étudiés.

Sites	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
St Flo 1									
St Flo 2									
Calvi									
Cargèse									
Ajaccio									
Tamarone									
Macin 1									
Macin 2									
Macin 3									
S Bastia									
St Aman 1									
St Aman 2									
Ile soleil									
Toulon g r									
Lazaret									

St Flo 1 : Saint Florent 1, **St Flo 2** : Saint Florent 2, **Macin 1** : Macinaggio 1 (capitainerie), **Macin 2** : Macinaggio 2 (port de pêche), **Macin 3** : Macinaggio 3 (mise à l'eau), **S Bastia** : Sud Bastia, **St Aman 1** : Sant Amanza 1, **St Aman 2** : Sant Amanza 2, **Ile soleil** : Ile du soleil, **Toulon g r** : Toulon grande rade (Cépet).

 Côte occidentale Corse
 Côte orientale Corse
 Région PACA




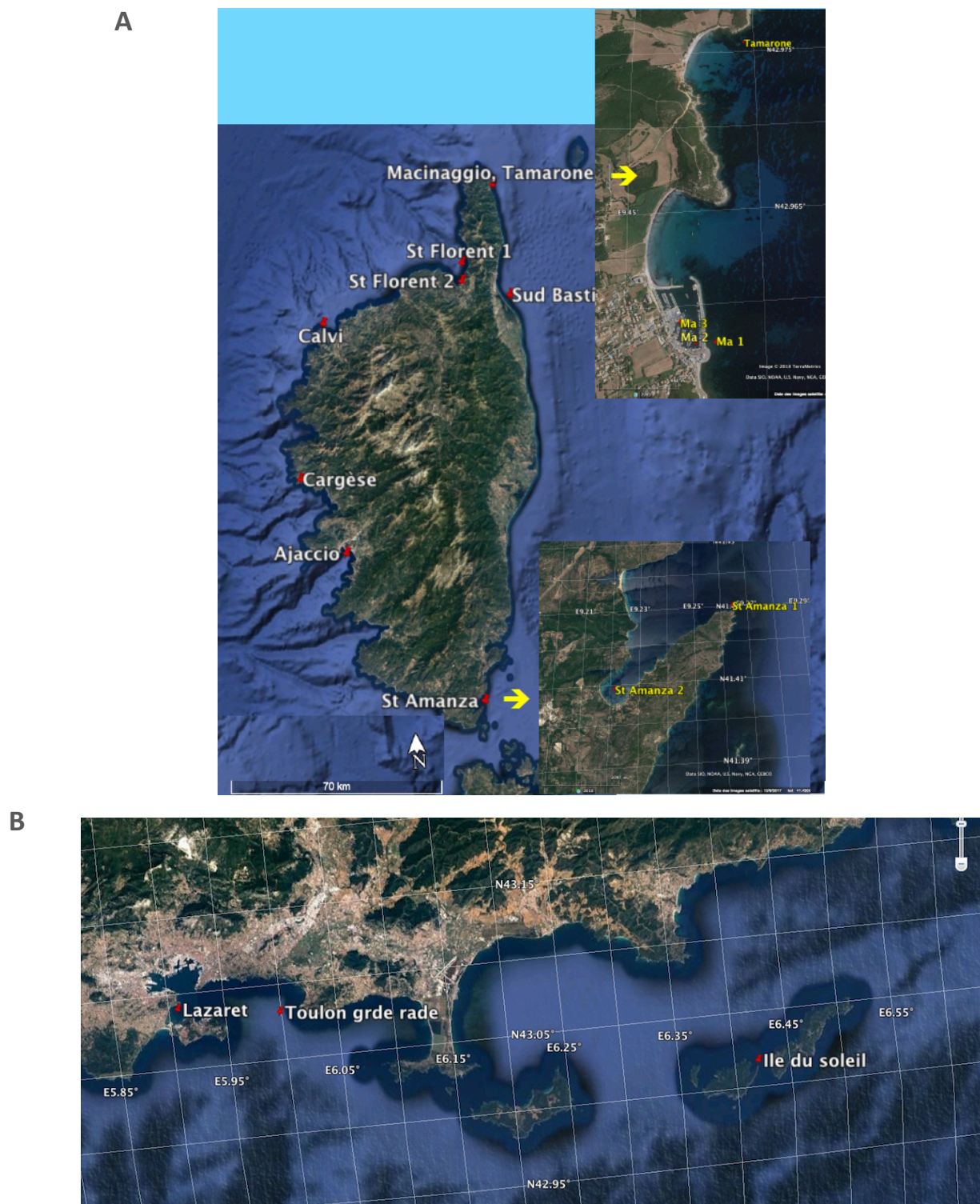
 Echantillonnage haute fréquence (2 x par semaine)
 Echantillonnage bi-mensuel
 Echantillonnage mensuel

Figure 4. Points de prélèvement pour la définition d'un indice de composition phytoplanctonique : eaux côtières corses (A) et région PACA (B).



La plupart des sels nutritifs ont été dosés par Anne Goffart (Tableau 6) sur un Technicon Autoanalyseur II selon les procédures décrites par Tréguer & Le Corre (1975) pour les nitrates (NO_3^-), les nitrites (NO_2^-) et l'ammonium (NH_4^+) et par Gordon et al. (1993) pour les silicates (Si(OH)_4). Des standards OSIL ont été utilisés pour les calibrations. Les nutriments dosés par l'IFREMER (Tableau 6) ont été analysés selon les méthodes décrites par Aminot et Kérouel (2007).

Les pigments ont été dosés par Anne Goffart (Tableau 6). Après filtration de 1 litre d'eau sur filtre GF/F de 25 mm et congélation immédiate des échantillons, l'extraction des pigments a été réalisée par sonication dans du méthanol selon la technique décrite par Vidussi et al. (2000). Les pigments ont ensuite été séparés par HPLC selon la technique décrite par Zapata et al. (2000) puis quantifiés à l'aide du logiciel Empower de Waters. Les courbes de calibration ont été réalisées à partir des pigments vendus par la société DHI (Danemark).

Tableau 6. Liste des points de prélèvement pour la définition d'un indice de composition phytoplanctonique adapté aux eaux côtières de type 3W et 3W Islands (1/3).

Ecotype	Zone	Typologie ME	Zone	Site et nom du point	Position	Code ME	Libellé ME	Opérateurs prélèvements	Opérateurs analyses sels nutritifs	Opérateur analyses pigmentaires (HPLC)	Financement
3W Islands	Ouest Corse	C23 Littoral NO de la Corse	Ouest Corse	Saint Florent 1 (sortie de golfe)	42.73086°N 9.30619°E	FREC01c	Golfe de Saint-Florent	Station STARESO Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	ONEMA
3W Islands	Ouest Corse	C23 Littoral NO de la Corse	Ouest Corse	Saint Florent 2 (port de plaisance)	42.67603°N 9.29994°E			Station STARESO Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	ONEMA
3W Islands	Ouest Corse	C23 Littoral NO de la Corse	Ouest Corse	Calvi (PHYTOCLY)	42.58083°N 8.72850°E	FREC01ab	Pointe Palazzu - Sud Nonza	Station STARESO Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	IFREMER, suivi DCE
3W Islands	Ouest Corse	C24 Du Golfe de Saint-Tropez - Cannes et littoral Ouest Corse	Ouest Corse	Cargèse	42.12633°N 8.59433°E	FREC04ac	Pointe Senetosa - Pointe Palazzu	Station STARESO Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	ULiège (Unité Plancton, analyses)
3W Islands	Ouest Corse	C24 Du Golfe de Saint-Tropez - Cannes et littoral Ouest Corse	Ouest Corse	Ajaccio	41.89732°N 8.75735°E	FREC04b	Golfe d'Ajaccio	Station STARESO Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	ULiège (Unité Plancton, analyses)

Tableau 6. Liste des points de prélèvement pour la définition d'un indice de composition phytoplanctonique adapté aux eaux côtières de type 3W et 3W Islands (2/3).

Ecotype	Zone	Typologie ME	Site et nom du point	Position	Code ME	Libellé ME	Opérateurs prélèvements	Opérateurs analyses sels nutritifs	Opérateur analyses pigmentaires (HPLC)	Financement
3W Islands	Est Corse	C26 Cote sableuse Est Corse	Tamarone	42.97552°N 9.45906°E	FREC02ab		Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	AFB (ce projet)
3W Islands	Est Corse	C26 Cote sableuse Est Corse	Macinaggio 1 (capitainerie)	42.95744°N 9.45643°E	FREC02ab	Cap Est de la Corse	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	AFB (ce projet)
3W Islands	Est Corse	C26 Cote sableuse Est Corse	Macinaggio 2 (port de pêche)	42.95799°N 9.45506°E			Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	AFB (ce projet)
3W Islands	Est Corse	C26 Cote sableuse Est Corse	Macinaggio 3 (mise à l'eau)	42.95907°N 9.45389°E			Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	AFB (ce projet)
3W Islands	Est Corse	C26 Cote sableuse Est Corse	Sud Bastia	42.62447° N 9.49115° E	FREC02c	Littoral Bastiais	IFREMER DE BASTIA	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	AFB (ce projet)
3W Islands	Est Corse	C18 Côte rocheuse languedocienne et du Sud de la Corse	Sant'Amanza 1 (Extérieur, sortie de golfe)	41.42967°N 9.26540°E	FREC03c	Golfe de Sant' Amanza	IFREMER DE BASTIA	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	ONEMA
3W Islands	Est Corse	C18 Côte rocheuse languedocienne et du Sud de la Corse	Sant'Amanza 2 (Intérieur, fond de golfe)	41.40850°N 9.22102°E	FREC03c	Golfe de Sant' Amanza	IFREMER DE BASTIA	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	ONEMA

Tableau 6. Liste des points de prélèvement pour la définition d'un indice de composition phytoplanctonique adapté aux eaux côtières de type 3W et 3W Islands (suite 3/3).

Ecotype	Zone	Typologie ME	Site et nom du point	Position	Code ME	Libellé ME	Opérateurs prélèvements	Opérateurs analyses sels nutritifs	Opérateur analyses pigmentaires (HPLC)	Financement
3W	PACA	C22 Des calangues de Marseille - la Baie de Cavalaire	Ile du soleil	43.014832°N 6.419668°E	FRDC07h	Iles du soleil	Sous-traitants de l'IFREMER DE TOULON	IFREMER	Anne Goffart (ULiège)	Ce projet
3W	PACA	C22 Des calangues de Marseille - la Baie de Cavalaire	Toulon grande rade (Cépet)	43.078999°N 5.954667°E	FRDC07g	Cap Cépet – Cap de Carqueianne	IFREMER DE TOULON	IFREMER	Anne Goffart (ULiège)	Ce projet
3W	PACA	C22 Des calangues de Marseille - la Baie de Cavalaire	Lazaret	43.087319°N 5.906421°E	FRDC07g	Cap Cépet – Cap de Carqueianne	IFREMER DE TOULON	Anne Goffart (ULiège)	Anne Goffart (ULiège)	Ce projet

5. INDICE DE COMPOSITION ICPP MEDIT

5.1 Relations pressions / impacts et sélection des pigments à intégrer à l'indice de composition ICPP Médit

Une condition préalable pour que des indicateurs ou des indices biologiques soient écologiquement significatifs est qu'ils répondent aux proxys de pression (Birk et al. 2012, Garmendia et al. 2013). Aujourd'hui, des travaux complémentaires sont nécessaires pour comprendre ces relations et améliorer les capacités d'évaluation, et donc le succès potentiel des mesures de gestion (Ferreira et al. 2011). Afin d'approfondir le travail engagé par Goffart & Andral (2014), les relations proxys de pression / pigments phytoplanctoniques ont été testées sur des jeux de données cohérents.

5.1.1 Relations pressions / impacts en milieu de référence : exemple de Calvi

Les premiers tests ont été réalisés sur 6 ans de données haute fréquence du site de référence de Calvi, soit la durée d'un plan de gestion (2009-2014, Tableau 7). L'influence de la fréquence d'échantillonnage sur les relations proxys de pression / concentrations en pigments phytoplanctoniques a été testée en réduisant progressivement le jeu de données haute fréquence à deux échantillons par mois (idéalement les 1^{er} et 3^{ème} mardis de chaque mois ; Tableau 8), puis à un échantillon mensuel (idéalement le 1^{er} mardi de chaque mois; Tableau 9). Les silicates ne sont pas considérés comme une pression mais ils limitent la croissance des diatomées et des silicoflagellés. Ils ont été intégrés aux Tableaux 7, 8 et 9.

La biomasse phytoplanctonique totale (Tchl *a*) et les différentes chlorophylles mesurées (chl *a*, DV-chl *a*, Tchl *a*, Tchl *b*) répondent positivement aux nitrates, aux nitrites, aux nitrates+nitrites et à l'azote inorganique dissous (DIN) aux 3 fréquences d'échantillonnage testées.

Tableau 7. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le site de référence de Calvi (2009-2014). Données haute fréquence (≈ 2 mesures par semaine); $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleures corrélations sont soulignées.

	NO ₃ ⁻ n = 511	NO ₂ ⁻ n = 511	NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻ n = 511	NH ₄ ⁺ n = 259	DIN n = 259	Si(OH) ₄ n = 510
Tchl <i>a</i>	0.38	<u>0.47</u>	0.43	-	0.45	0.31
Chl <i>a</i>	0.39	<u>0.48</u>	0.44	-	0.45	0.31
Divinyl chl <i>a</i>	0.15	0.22	0.17	-	<u>0.25</u>	0.15
Peri	0.38	0.32	0.39	-	<u>0.40</u>	0.23
Buta	0.20	<u>0.32</u>	0.24	-0.12	0.24	0.31
Fuco	0.53	0.50	0.57	-	<u>0.61</u>	0.31
Neo	0.42	<u>0.52</u>	0.46	-	0.49	0.28
Prasino	0.50	<u>0.60</u>	0.55	-	0.57	0.37
Viola	0.33	0.32	<u>0.34</u>	-	0.32	0.18
19'HF	0.14	<u>0.24</u>	0.17	-	0.18	0.21
Allo	0.41	<u>0.53</u>	0.46	-	0.47	0.43
Zea	-	-	-	-	-	-
Tchl <i>b</i>	0.25	0.32	0.29	-	<u>0.34</u>	0.26
	P<0.0001	P<0.001	P<0.05	- NS		

Tableau 8. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le site de référence de Calvi (2009-2014). Données bi-mensuelles; $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleures corrélations sont soulignées.

	NO_3^- n = 144	NO_2^- n = 144	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ n = 144	NH_4^+ n = 143	DIN n = 143	Si(OH)_4 n = 145
Tchl a	0.40	<u>0.49</u>	0.46	-	0.38	<u>0.27</u>
Chl a	0.40	<u>0.47</u>	0.45	-	0.38	<u>0.25</u>
Divinyl chl a	<u>0.22</u>	<u>0.37</u>	<u>0.26</u>	-0.18	<u>0.22</u>	<u>0.17</u>
Peri	0.34	<u>0.36</u>	0.34	-	0.34	<u>0.16</u>
Buta	<u>0.24</u>	<u>0.34</u>	<u>0.28</u>	-0.18	<u>0.21</u>	<u>0.24</u>
Fuco	0.56	0.48	<u>0.60</u>	-	0.60	<u>0.28</u>
Neo	0.39	<u>0.46</u>	0.43	-	0.37	<u>0.30</u>
Prasino	0.49	<u>0.58</u>	0.53	-	0.48	0.33
Viola	<u>0.22</u>	<u>0.22</u>	<u>0.22</u>	-	<u>0.19</u>	-
19'HF	<u>0.19</u>	<u>0.29</u>	<u>0.23</u>	-0.18	-	<u>0.18</u>
Allo	0.43	<u>0.52</u>	0.49	-	0.41	0.44
Zea	-	-	-	-	-	-
Tchl b	<u>0.26</u>	<u>0.33</u>	<u>0.30</u>	-	<u>0.26</u>	<u>0.24</u>
	$P < 0.0001$	$P < 0.001$	$P < 0.05$	- NS		

Tableau 9. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le site de référence de Calvi (2009-2014). Données mensuelles; $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleures corrélations sont soulignées.

	NO_3^- n = 72	NO_2^- n = 72	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ n = 72	NH_4^+ n = 72	DIN n = 72	Si(OH)_4 n = 72
Tchl a	0.47	0.49	<u>0.50</u>	-	0.43	<u>0.30</u>
Chl a	0.45	0.48	<u>0.49</u>	-	0.43	<u>0.28</u>
Divinyl chl a	<u>0.29</u>	<u>0.37</u>	<u>0.32</u>	-	<u>0.26</u>	-
Peri	<u>0.33</u>	<u>0.43</u>	<u>0.33</u>	-	<u>0.39</u>	-
Buta	<u>0.39</u>	<u>0.37</u>	<u>0.41</u>	-	<u>0.34</u>	<u>0.29</u>
Fuco	0.58	0.47	0.62	<u>0.23</u>	<u>0.67</u>	<u>0.24</u>
Neo	0.41	<u>0.42</u>	0.42	-	<u>0.37</u>	<u>0.24</u>
Prasino	0.57	0.56	<u>0.59</u>	-	0.56	<u>0.33</u>
Viola	-	<u>0.28</u>	-	-	-	-
19'HF	<u>0.34</u>	<u>0.33</u>	<u>0.36</u>	-	<u>0.29</u>	<u>0.25</u>
Allo	0.44	0.46	<u>0.47</u>	-	0.41	<u>0.38</u>
Zea	-	-	-	-	-	-
Tchl b	<u>0.35</u>	<u>0.26</u>	<u>0.33</u>	-	<u>0.29</u>	<u>0.29</u>
	$P < 0.0001$	$P < 0.001$	$P < 0.05$	- NS		

Tous les caroténoïdes mesurés, à l'exception de la zéaxanthine, répondent positivement à une ou plusieurs formes d'azote dissous. Pour les 3 fréquences d'échantillonnage testées, la périidine, la fucoxanthine, la cis-néoxanthine, la prasinoxanthine et l'alloxanthine présentent les corrélations positives les plus fortes ($p < 0.0001$, $\rho \geq 0.35$) avec les nitrites ou l'azote inorganique dissous (DIN).

Le suivi haute fréquence réalisé à Calvi entre 2009 et 2014 (≈ 2 mesures par semaine) est intéressant à des fins de recherche. Dans le cadre des réseaux de surveillance, une fréquence d'échantillonnage hebdomadaire serait idéale pour le suivi des communautés phytoplanctoniques en milieu de

référence. Cette fréquence implique cependant des coûts élevés de travail à la mer et d'analyses. Il nous semble dès lors plus réaliste de se limiter à un prélèvement tous les quinze jours. Il est par contre fondamental d'assurer la continuité des séries de mesures.

5.1.2 Relations pressions / impacts sur l'ensemble du jeu de données Méditerranée

Les relations proxys de pression / pigments phytoplanctoniques ont ensuite été étudiées sur l'ensemble du jeu de données acquis en Méditerranée, caractérisé par un gradient de pressions important (Tableau 10). La fréquence mensuelle, à laquelle la plupart des sites ont été échantillonnés (Tableau 5), a été retenue afin de travailler sur des jeux de données homogènes. Bien que les silicates ne soient pas considérés comme une pression, ils limitent la croissance des diatomées et des silicoflagellés. Ils ont été intégrés au Tableau 10 pour information.

Tableau 10. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le jeu de données Méditerranée. Données mensuelles; $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleurs corrélations sont soulignées.

	NO ₃ ⁻ n = 261	NO ₂ ⁻ n = 265	NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻ n = 270	NH ₄ ⁺ n = 270	DIN n = 266	Si(OH) ₄ n = 255
Tchl a	0.48	<u>0.58</u>	0.51	0.25	0.52	0.41
Chl a	0.47	<u>0.58</u>	0.50	0.26	0.52	0.41
Divinyl chl a	<u>0.16</u>	<u>0.23</u>	<u>0.20</u>	-0.19	-	-
Peri	0.38	<u>0.47</u>	0.39	0.35	0.46	0.26
Buta	0.27	<u>0.31</u>	0.29	-0.13	0.19	<u>0.20</u>
Fucoxanthine	0.44	0.52	0.49	0.29	<u>0.53</u>	0.31
Neoxanthine	0.37	<u>0.52</u>	0.41	-	0.39	0.23
Prasinoxanthine	0.46	<u>0.61</u>	0.51	0.18	0.49	0.27
Alloxanthine	0.27	<u>0.40</u>	0.31	0.21	0.36	<u>0.13</u>
19'HF	0.22	<u>0.24</u>	0.23	-0.18	<u>0.12</u>	<u>0.16</u>
Allo	0.48	<u>0.57</u>	0.52	0.23	0.51	0.44
Zea	-	-	-	-0.17	-	-
Tchl b	0.55	<u>0.64</u>	0.58	0.26	0.59	0.47
	P<0.0001	P<0.001	P<0.05	- NS		

La biomasse phytoplanctonique totale (Tchl a), la chl a et la Tchl b répondent positivement à toutes les formes d'azote mesurées. Les corrélations positives les meilleures ($\rho \geq 0.45$, $p < 0.0001$) sont observées entre la Tchl a, la chl a et la Tchl b et les nitrites (NO₂⁻). La DV-chl a est moins bien corrélée aux proxys de pression que les autres chlorophylles.

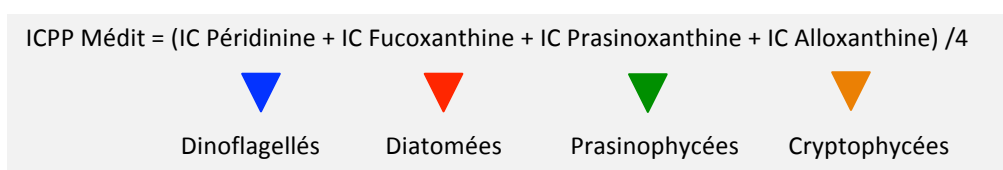
Tous les caroténoïdes mesurés, à l'exception de la zéaxanthine, répondent positivement à une ou plusieurs formes d'azote dissous. En Méditerranée, cinq pigments présentent des corrélations positives caractérisées par un coefficient **$\rho \geq 0.45$ et une p value < 0.0001** . Il s'agit de la périidine, de la fucoxanthine, de la cis-néoxanthine, de la prasinoxanthine et de l'alloxanthine.

La périidine, la cis-néoxanthine, la prasinoxanthine et l'alloxanthine présentent les corrélations positives les plus fortes avec les nitrites. La fucoxanthine est fortement corrélée avec les nitrites et l'azote organique dissous total (DIN). Ces observations soulignent, entre autres, l'importance de mesurer les nitrites seuls puisqu'ils sont considérés comme un traceur du métabolisme phytoplanctonique (e.g. Collos 1998, Al-Qutob et al. 2002). Il serait dès lors utile d'intégrer la mesure systématique des nitrites dans les réseaux de mesures, ce qui n'est pas le cas actuellement.

En Méditerranée, la péridinine, la fucoxanthine et l'alloxanthine sont considérés comme les marqueurs principaux des dinoflagellés photosynthétiques, des diatomées et des cryptophycées (*e.g.* Vidussi et al. 2000, Latasa et al. 2010). La prasinoxanthine est le pigment diagnostique des prasinophycées de type Prasino-3A et Prasino-3B qui contiennent aussi de la cis-néoxanthine. La cis-néoxanthine est également présente chez les chlorophycées, qui contiennent aussi de la lutéine (Tableau 2). La lutéine n'étant pratiquement jamais détectée dans nos échantillons méditerranéens, nous pouvons attribuer la cis-néoxanthine aux prasinophycées. Nous identifierons les prasinophycées de type Prasino-3A et Prasino-3B par la présence de prasinoxanthine, qui répond mieux aux pressions que la cis-néoxanthine (Tableau 10) et est plus spécifique (Tableau 2). A des fins de cohérence avec une grande partie de la littérature, nous désignerons les prasinophycées de type Prasino-3A et Prasino-3B par le terme générique de prasinophycées dans la suite du texte.

Les **quatre pigments** retenus pour construire l'indice de composition ICPP Médit sont donc la péridinine, la fucoxanthine, la prasinoxanthine et l'alloxanthine. En conséquence, l'indice de composition ICPP Médit est constitué de **quatre sous-indices** (Figure 5). Chaque sous-indice est associé à un pigment diagnostique qui répond aux pressions et dont la concentration est proportionnelle à la biomasse du groupe dont il est le traceur. Il convient néanmoins de garder à l'esprit que des traces de certains pigments (*e.g.* fucoxanthine) peuvent être observées dans d'autres groupes.

Figure 5. Représentation schématique de l'indice ICPP Médit.



Evolution par rapport à l'indice IC Médit 2014

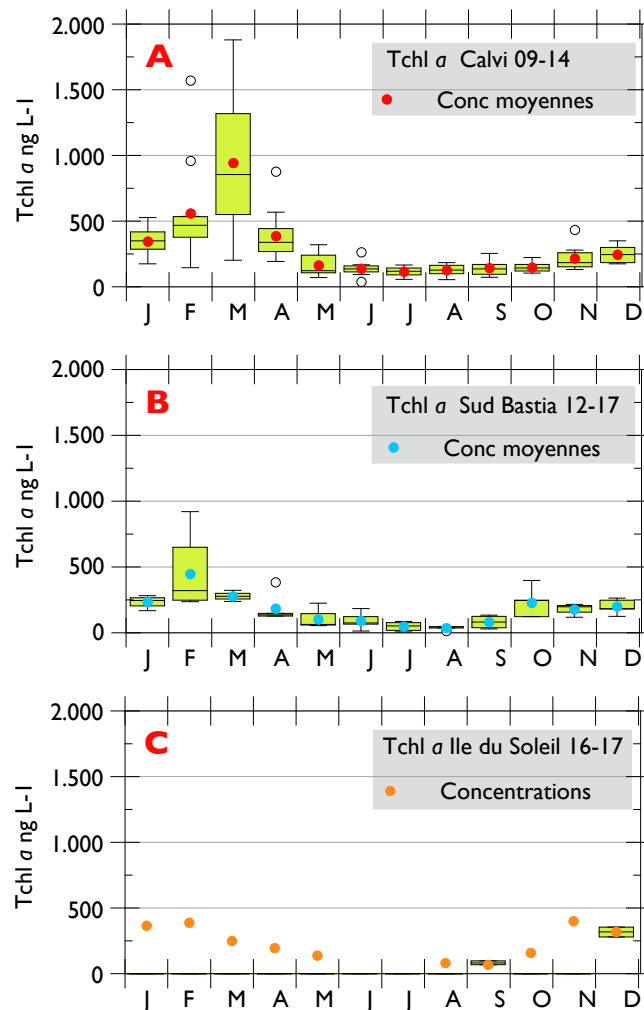
La zéaxanthine, pigment traceur des cyanobactéries, avait été intégrée à l'indice IC Médit 2014 parce qu'elle répondait positivement à l'ammonium. Ce n'est plus le cas quand les relations pressions / impacts sur les concentrations pigmentaires sont analysées sur l'ensemble du nouveau jeu de données Méditerranée. La zéaxanthine n'est donc pas intégrée à l'indice ICPP Médit.

5.2 Sites de référence et caractéristiques pigmentaires

Dans notre jeu de données, les sites de référence pour les zones Ouest Corse, Est Corse et la région PACA sont respectivement les points « Calvi », « Sud Bastia » et « Ile du soleil ». Ils correspondent aux points de références « Phytoplancton » de la DCE (Belin et al. 2014).

De mai à septembre, les concentrations en Tchl *a* y sont très basses (7 - 320 ng L⁻¹) et typiques des milieux oligotrophes (Figure 6). Les concentrations minimales sont observées au point Sud Bastia en juillet et août. A partir d'octobre, l'érosion progressive de la thermocline saisonnière s'accompagne d'une augmentation graduelle de la biomasse phytoplanctonique. Le bloom de fin d'hiver est observé en février à Bastia et à l'Ile du Soleil et en mars à Calvi, où les concentrations moyennes en Tchl *a* sont maximales et atteignent 943 ng L⁻¹ pour la période 2009-2014. En février et mars, on note une forte dispersion des valeurs en raison du développement des efflorescences successives. Le site de Bastia, baigné par les eaux de la Mer Tyrrhénienne, présente un caractère plus oligotrophe que celui de Calvi, situé en Mer Ligurienne.

Figure 6. Evolution temporelle de la Tchl a des sites de référence de Calvi (A, données bi-mensuelles 2009-2014, $n = 12$ par mois), Sud Bastia (B, données mensuelles 2012-2017, $n = 3-6$ par mois) et Ile du Soleil (C, données 2016-2017, $n = 1-2$ par mois) : boîtes à moustaches et concentrations moyennes calculées sur base des données disponibles.



Dans notre zone d'étude, les prymnesiophycées et les cyanobactéries, identifiées respectivement par la 19'HF et la zéaxanthine, représentent une fraction importante des communautés phytoplanctoniques (e.g. Marty et al. 2002, Latasa et al. 2010, Goffart 2019b). Ces groupes sont présents toute l'année en proportions variables, mais ne répondent pas, ou très peu, aux proxys de pressions disponibles.

Globalement, l'évolution temporelle des quatre pigments retenus pour intégrer l'indice de composition ICPP Médit suit celle de la Tchl a (Figures 7 et 8). Les concentrations sont maximales pendant le bloom de fin d'hiver, puis diminuent rapidement dès que la stratification estivale s'installe, empêchant le renouvellement en nutriments des couches de surface (Goffart et al. 2015). Elles se maintiennent ensuite à des niveaux très bas de mai à décembre. A Calvi comme à Bastia, la fucoxanthine est le plus abondant des pigments retenus pour intégrer l'indice de composition ICPP Médit. Viennent ensuite l'alloxanthine en seconde position, puis la périidine et la prasinoxanthine, peu abondantes en milieux de référence.

Figure 7. Evolution temporelle des pigments retenus pour l'indice de composition ICPP Médit au niveau du site de référence de Calvi (données bi-mensuelles 2009-2014, n = 12 par mois) : boîtes à moustaches et courbes de référence.

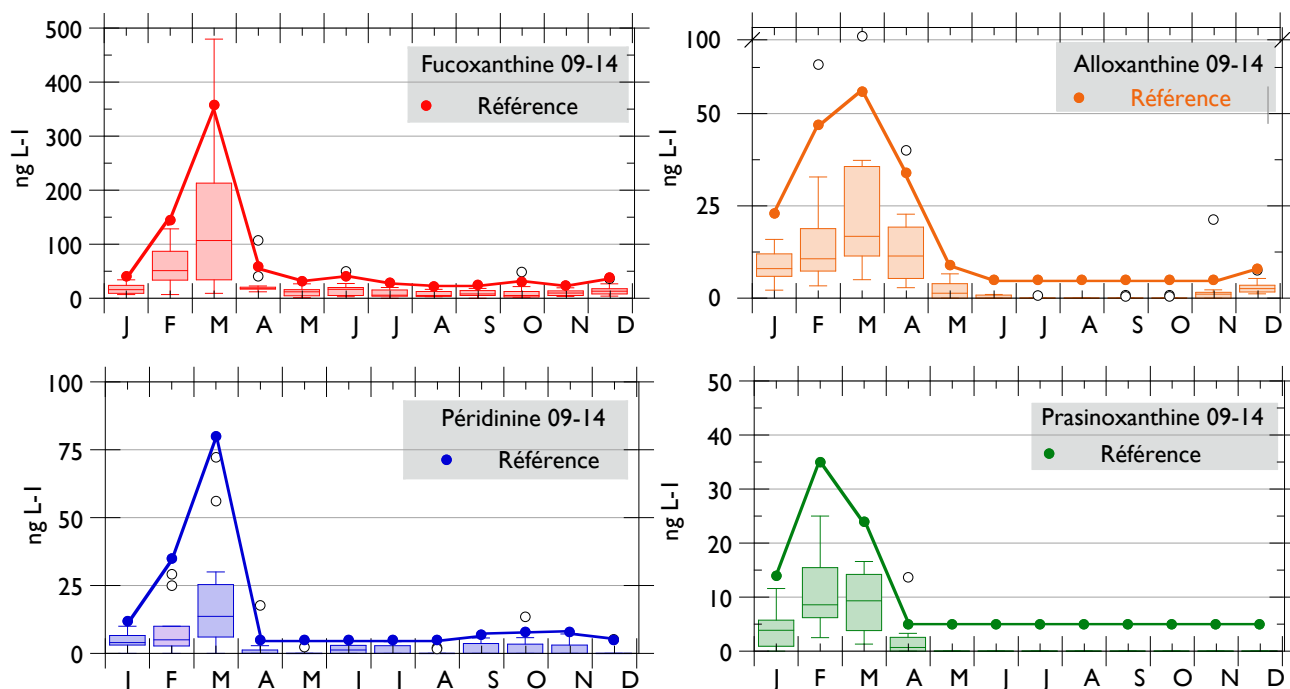
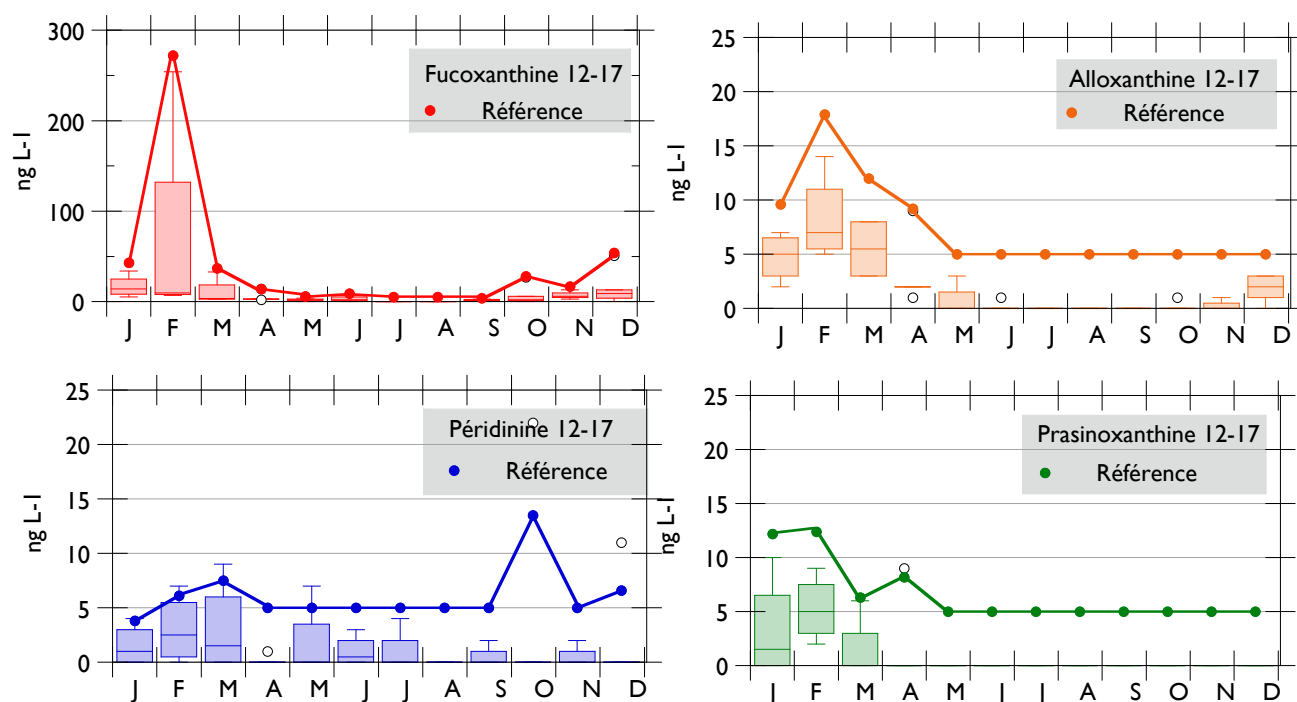


Figure 8. Evolution temporelle des pigments retenus pour l'indice de composition ICPP Médit au niveau du site de référence Sud Bastia (données mensuelles 2012-2017, n = 3-6 par mois) : boîtes à moustaches et courbes de référence.



5.3 Construction des courbes de référence

Les courbes de référence ont été établies pour les stations Calvi (Ouest Corse) et Sud Bastia (Est Corse) à partir des données disponibles (données bi-mensuelles à Calvi, données mensuelles à Bastia). A Calvi et Bastia, les courbes ont été établies respectivement pour les périodes 2009-2014 et

2012-2017, périodes durant lesquelles les autres stations des deux façades ont été échantillonnées (Tableau 5). Les courbes de référence de l'île du Soleil n'ont pu être construites en raison d'un jeu de données insuffisant (Figure 6C). Par défaut, toutes les stations de la Mer Ligure (Ouest Corse et PACA) ont été évaluées par rapport aux courbes de référence de Calvi. Pour les stations de la région PACA, les courbes de référence ont été établies pour la période 2012-2017, qui englobe la période d'échantillonnage des sites concernés (Tableau 5).

La méthode de construction des ***courbes de référence*** définie par Goffart & Andral (2014) a été légèrement modifiée. Pour chaque pigment diagnostique retenu, une courbe de référence est construite. Cette courbe décrit l'évolution saisonnière de la limite très bon état / bon état du pigment considéré. Idéalement, les courbes sont construites à partir de données bi-mensuelles acquises sur une période glissante de 6 ans, soit la durée d'un plan de gestion. Chaque courbe comprend 12 valeurs (1 valeur par mois) obtenues en calculant le P_{90} mensuel des concentrations et en y ajoutant une marge de sécurité de 50% (Tableau 11). Le principe de la marge de sécurité de 50% a été proposé par Devlin (2008). Il vise à intégrer la variabilité naturelle des communautés phytoplanctoniques. Le cas échéant, un seuil minimum de 5 ng L⁻¹ est imposé pour permettre le calcul des sous-indices. Les courbes obtenues sont présentées aux Figures 7 et 8. Le principe des courbes de référence glissantes permet d'intégrer les éventuels effets des changements climatiques sur le long terme.

Tableau 11. Exemple d'un calcul de valeur de référence : site de Calvi, calcul de la référence « Fucoxanthine » pour le mois de janvier. Concentrations en ng L⁻¹.

Année	Date	Fucoxanthine	P_{90}	Concentration de référence :
				$P_{90} + 50\%$
2009	06/01	23	27	40
2009	20/01	21		
2010	05/01	19		
2010	19/01	27		
2011	05/01	26		
2011	18/01	34		
2012	05/01	8		
2012	16/01	13		
2013	08/01	7		
2013	23/01	12		
2014	02/01	10		
2014	15/01	9		

Evolution par rapport à l'indice IC Méditerranée 2014

La méthode de construction des courbes de référence proposée dans le cadre de l'indice IC Méditerranée 2014 utilisait les données haute fréquence du site de Calvi. Il n'est pas réaliste d'appliquer cette fréquence à l'ensemble des sites de référence. Une fréquence d'échantillonnage bi-mensuelle a donc été retenue pour l'indice ICPP Méditerranée.

5.4 Calcul de l'indice de composition ICPP Méditerranée, grille de qualité et classement des sites évalués

Les réflexions menées dans le cadre de cette étude ont abouti à la mise au point de la procédure de calcul de l'indice de composition phytoplanctonique ICPP Méditerranée décrite ci-dessous. Cette procédure est le fruit d'un long travail durant lequel nous avons veillé à développer un indice sensible aux pressions et robuste scientifiquement mais facile à mettre en œuvre par des acteurs ne disposant pas d'expertise spécifique en biodiversité et en écologie du phytoplancton.

Les étapes successives permettant l'évaluation de qualité de la composition phytoplanctonique d'un site sont développées ci-dessous.

1. **Pour chaque pigment** retenu pour l'indice de composition ICPP Médit, un sous-indice est calculé. La Figure 9 et le Tableau 12 illustrent deux calculs d'EQR du sous-indice fucoxanthine.
 - Comparer les concentrations en pigments mesurées dans les sites à évaluer aux valeurs de référence en respectant la temporalité (*i.e.* comparer les mesures et la valeur de référence du même mois);
 - Calculer la fréquence (%) des écarts à la référence et l'importance des dépassements (%) pendant la période d'observation;
 - Calculer les IC scores en appliquant la formule ci-dessous :

$$\text{IC score} = (\text{fréquence des dépassements} \times \text{dépassement moyen relatif}) / 1000;$$
 - Transformer les IC scores ≤ 20 en EQR en appliquant la formule :

$$\text{EQR} = 1 - (0.050 \times \text{IC score}); \text{ un IC score} > 20 \text{ correspond à un EQR de 0. Le seuil de 20 a été défini sur base de notre connaissance du terrain.}$$

Un nombre élevé de dépassements et/ou des dépassements importants mettent en évidence des concentrations anormalement élevées en pigment diagnostique, et donc une composition floristique altérée. A l'inverse, une majorité de mesures inférieures aux concentrations de référence montre que l'abondance du groupe considéré, identifié par son pigment diagnostique, ne se distingue pas de celle de la masse d'eau de référence associée.

2. **Répéter** les étapes du point 1 pour les différents pigments retenus.
3. **Calculer l'indice de composition final** : L'EQR final est la moyenne arithmétique des EQRs des sous-indices. L'indice de composition ICPP varie de 0 (composition phytoplanctonique très dégradée) à 1 (composition phytoplanctonique en très bon état).

$$\text{ICPP Médit} = (\text{IC Fucoxanthine} + \text{IC Alloxanthine} + \text{IC Péridinine} + \text{IC Prasinoxanthine}) / 4.$$

4. **Confronter les valeurs de l'ICPP Médit à la grille de qualité** établie pour la Méditerranée (Figure 10).

Figure 9. Positionnement des concentrations en fucoxanthine des points Sant'Amanza In (2012-2013) et Tamarone (2017) par rapport à la courbe de référence associée (Sud Bastia, 2012-2017).

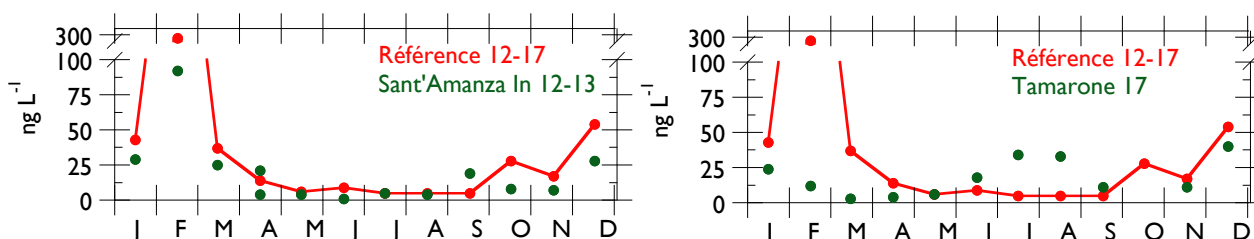


Tableau 12. Calcul du sous-indice fucoxanthine pour les points Sant'Amanza In et Tamarone.

Site	Nombre de données	Nombre de dépassements	Fréquence des dépassements %	Dépassement moyen %	IC score fucoxanthine	EQR fucoxanthine
Sant'Amanza In	13	2	15	165	2.48	0.88
Tamarone	11	5	45	278	12.51	0.37
(dont 1 faible dépassement en mai)						

Aujourd'hui, des études s'intéressent aux effets du changement de composition phytoplanctonique sur le zooplancton et les niveaux trophiques supérieurs (e.g. Lehtinen et al. 2016). Elles nécessitent des séries de données à long-terme des différents compartiments du milieu pélagique et mettent en œuvre des traitements complexes de l'information. Cependant aucune étude ne définit, en termes écologiques, ce qu'est une « composition phytoplanctonique moyenne ». Il n'y a pas de principes généraux permettant d'établir les seuils aux différentes échelles d'espace et de temps (Groffman et al. 2016). De plus, les notions de santé et de résilience de l'écosystème restent difficiles à quantifier (Tett et al. 2013, Borja 2014). Dès lors, nous avons établi notre grille de qualité sur base de notre connaissance du terrain, et de ce que nous considérons comme très bonne et mauvaise compositions phytoplanctoniques pour la zone d'étude. Nous avons ensuite fixé les bornes des différents états, en vérifiant la cohérence des classements obtenus avec notre expertise.

Le classement des points Méditerranée évalué par ICPP Médit est présenté à la Figure 11. Il est cohérent avec le classement obtenu après application de l'ICBC développé par Lampert et Hernandez-Fariñas (2018), ce qui tend à valider notre démarche et nos choix de seuils. Les développements de la comparaison ICPP Médit/ICBC sont présentés dans Goffart 2019a. Néanmoins, l'acquisition de données pigmentaires sur un plan de gestion permettrait de valider les seuils proposés, ou, le cas échéant de les ajuster.

Les résultats montrent aussi que dans certains cas, pour un même site, les différents sous-indices présentent des résultats contrastés (Tableau 13). Pour le point Lazaret par exemple, l'alloxanthine, la péridinine et la fucoxanthine classent le point en mauvais état, alors que la prasinoxanthine le classe en très bon état. Ceci met en évidence que les différents groupes phytoplanctoniques, identifiés par leur signature pigmentaire, répondent différemment aux pressions et aux contraintes environnementales.

De plus, au sein d'un groupe, l'analyse de l'évolution temporelle des mesures permet d'identifier la saisonnalité des perturbations. Dans l'exemple de la Figure 9, les concentrations en fucoxanthine mesurées à Tamarone sont situées sous la courbe de référence de janvier à avril, puis elles passent au-dessus de la courbe de mai à septembre, pendant la saison estivale. D'octobre à décembre, elles repassent sous la référence. Les écarts les plus importants sont observés en juillet et en août, ce qui est probablement à mettre en relation avec une fréquentation accrue de la plage et du mouillage forain.

Figure 10. Grille de qualité pour les indices et sous-indices ICPP Médit.

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
ICPP Médit	1 0.90	0.70	0.50	0.20	0

Evolution par rapport à l'indice IC Médit 2014

La méthode de calcul de l'indice ICPP Médit et de ses sous-indices a été développée. La grille d'évaluation a été proposée.

Figure 11. Classement des points Méditerranée évalués par l'ICPP Médit.

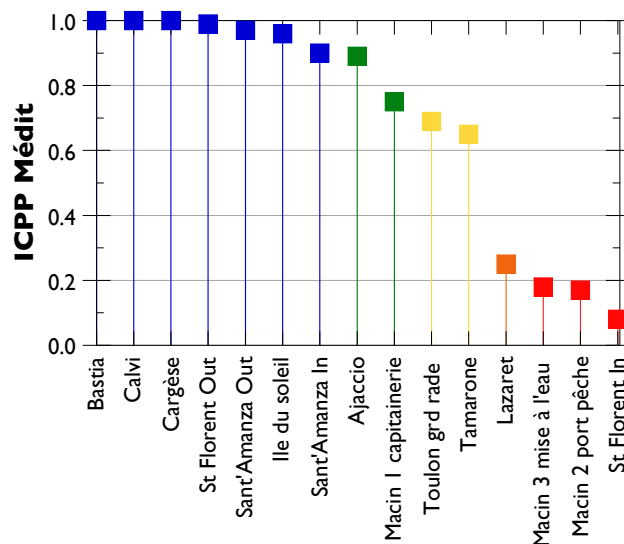


Tableau 13. Valeurs de l'ICPP Médit et de ses sous-indices pour les sites étudiés.

Site	IC Péri	IC Fuco	IC Allo	IC Prasino	ICPP Médit
Bastia	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Calvi	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cargèse	1.00	1.00	0.99	0.99	1.00
Saint Florent Out	0.98	1.00	0.97	1.00	0.99
Sant'Amanza Out	1.00	0.91	1.00	0.98	0.97
Ile du soleil	0.98	0.98	0.89	0.98	0.96
Sant'Amanza In	0.81	0.88	0.93	1.00	0.90
Ajaccio	0.81	0.95	0.79	1.00	0.89
Macinaggio capitainerie (Ma 1)	0.99	0.00	1.00	1.00	0.75
Toulon grde rade (Cépet)	0.70	0.45	0.74	0.85	0.69
Tamarone	0.24	0.37	0.99	1.00	0.65
Lazaret	0.00	0.00	0.00	0.99	0.25
Macinaggio mise à l'eau (Ma 3)	0.00	0.00	0.00	0.72	0.18
Macinaggio port pêche (Ma 2)	0.00	0.00	0.00	0.68	0.17
Saint Florent In	0.00	0.00	0.00	0.30	0.08

5.5 Réponse de l'ICPP Médit aux proxys de pression

L'indice de composition ICPP Médit a été construit en retenant les pigments qui répondent positivement aux pressions. Cette sélection a été réalisée en analysant l'ensemble du jeu de données non agrégées.

Au bout du processus de mise au point et de calcul de l'indice de composition, des coefficients de corrélation rho élevés, compris entre -0.52 et -0.74, sont obtenus entre l'indice ICPP Médit et les proxys de pression moyennés sur les périodes d'étude (Tableau 14), ce qui montre par la bonne sensibilité de notre indice aux pressions considérées globalement. Les coefficients de corrélation entre les sous-indices et les nutriments moyens varient de -0.52 à -0.80.

Tableau 14. Matrice de corrélation de Spearman (rho) entre les valeurs de l'ICPP Médit et ses sous-indices et les sels nutritifs nutritifs moyennés sur les périodes d'étude. Les valeurs en rouge sont significatives.

Variables	N03 μM	N02 μM	NH4 μM	DIN μM	ICPP Médit	IC Allo	IC Péri	IC Fuco	IC Prasino
N03 μM	1.00	0.45	0.40	0.92	-0.35	-0.48	-0.39	-0.26	-0.42
N02 μM	0.45	1.00	0.29	0.54	-0.50	-0.52	-0.61	-0.35	-0.03
NH4 μM	0.40	0.29	1.00	0.55	-0.74	-0.48	-0.69	-0.80	-0.52
DIN μM	0.92	0.54	0.55	1.00	-0.52	-0.51	-0.50	-0.50	-0.32
ICPP Médit	-0.35	-0.50	-0.74	-0.52	1.00	0.76	0.93	0.93	0.59
IC Allo	-0.48	-0.52	-0.48	-0.51	0.76	1.00	0.86	0.58	0.62
IC Péri	-0.39	-0.61	-0.69	-0.50	0.93	0.86	1.00	0.81	0.51
IC Fuco	-0.26	-0.35	-0.80	-0.50	0.93	0.58	0.81	1.00	0.49
IC Prasino	-0.42	-0.03	-0.52	-0.32	0.59	0.62	0.51	0.49	1.00

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0.05$

6. CONCLUSIONS

Lors d'un premier travail, nous avons élaboré l'indice de composition phytoplanctonique IC Médit 2014 à partir des données pigmentaires du phytoplancton des eaux côtières corses sur un jeu de données restreint (Goffart & Andral 2014). Dans cette étude, nous avons fait évoluer l'indice en complétant le premier jeu de données par des données acquises dans des sites côtiers méditerranéens soumises à des forces de pression d'intensité croissante. Le nouvel indice, ICPP Médit, est un indice multimétrique qui répond aux pressions et apporte des informations sur la saisonnalité des perturbations. Le protocole de calcul a été défini et la grille d'évaluation proposée. ICPP Médit a été conçu pour être robuste scientifiquement mais facile à mettre en œuvre par des acteurs ne disposant pas d'expertise spécifique en biodiversité et en écologie du phytoplancton. L'évaluation des incertitudes sur le classement des masses d'eau et/ou des sites échantillonnés, et l'éventuel ajustement de la grille, nécessitent l'acquisition de données complémentaires, idéalement sur un plan de gestion. Cependant, l'application croisée de l'ICPP Médit et de l'ICBC, développé par Lampert et Hernandez-Fariñas (2018) sur le jeu de données méditerranéen montre une bonne cohérence des classements issus de l'application des deux méthodologies, ce qui conforte les choix posés dans l'élaboration de l'indice ICPP Médit.

7. BIBLIOGRAPHIE

- Al-Qutob, M., Clivia Häse, C., Tilzer, M.M., Lazar, B., 2002. Phytoplankton drives nitrite dynamics in the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Marine Ecology Progress Series* 239, 233-239.
- Alvain, S., Moulin, C., Dandonneau, Y., Loisel, H., 2008. Seasonal distribution and succession of dominant phytoplankton groups in the global ocean: A satellite view. *Global Biogeochemical Cycles* 22, n/a-n/a.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines. Editions Quae IFREMER. Versailles, Plouzané.

- Belin, C., Lamoureux, A., Soudant, D., 2014. Evaluation de la qualité des eaux littorales de la France métropolitaine pour l'élément de qualité Phytoplancton dans le cadre de la DCE. Etat des lieux des règles d'évaluation, et résultats pour la période 2007-2012. Tome 1 - Etat des lieux, méthodes et synthèse des résultats. Rapport DYNECO / VIGIES / 14-05 – Tome 1, 159 pp.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., van de Bund, W., Zampoukas, N., Hering, D., 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators* 18, 31-41.
- Borja, A., 2014. Grand challenges in marine ecosystems ecology. *Frontiers in Marine Science* 1.
- Bustillos-Guzmán, J., Claustre, H., Marty, J.-C., 1995. Specific phytoplankton signatures and their relationships to hydrographic conditions in the coastal northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* 124, 247–258.
- Claustre, H., Kerhervé, P., Marty, J.-C., Prieur, L., Videau, C., Hecq, J.-H., 1994. Phytoplankton dynamics associated with a geostrophic front: Ecological and biogeochemical implications. *Journal of Marine Research* 52, 711-742.
- Collos, Y., 1998. Nitrate uptake, nitrite release and uptake, and new production estimates. *Marine Ecology Progress Series* 171, 293-301.
- Devlin, M. 2008. Seasonal succession – new approach for assessment of phytoplankton communities. Bella Earth Environmental Consultancy. Report for Environment Agency (July 2008), 38 pp.
- Ferreira, J.G., Andersen, J.H., Borja, A., Bricker, S.B., Camp, J., Cardoso da Silva, M., Garcés, E., Heiskanen, A.-S., Humborg, C., Ignatiades, L., Lancelot, C., Menesguen, A., Tett, P., Hoepffner, N., Claussen, U., 2011. Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 93, 117-131.
- Garmendia, M., Borja, A., Franco, J., Revilla, M., 2013. Phytoplankton composition indicators for the assessment of eutrophication in marine waters: present state and challenges within the European directives. *Marine Pollution Bulletin* 66, 7-16.
- Goffart, A., 2019a. Evaluation croisée de la composition phytoplanctonique des eaux côtières métropolitaines par les indices ICPP et ICBC. Rapport final de l'action 2 du projet « Indicateur de composition phytoplanctonique ». Convention de subvention ONEMA - Université de Liège, 25 pp.
- Goffart, A., 2019b. Elaboration d'une méthode de surveillance de la composition phytoplanctonique à grande échelle. Rapport final de l'action 3 du projet « Indicateur de composition phytoplanctonique ». Convention de subvention ONEMA - Université de Liège, 22 pp.
- Goffart, A., Andral, B., 2014. Validation de l'indice composition IC Medit dans des masses d'eau côtières méditerranéennes caractérisées par un gradient croissant d'eutrophisation. Rapport final de convention, action Indice de composition. IFREMER et ONEMA, France, 33 pp.
- Goffart, A., Hecq, J.-H., Legendre, L., 2002. Changes in the development of the winter-spring phytoplankton bloom in the Bay of Calvi (NW Mediterranean) over the last two decades: a response to changing climate ? *Marine Ecology Progress Series* 236, 45-60.

- Goffart, A., Hecq, J.-H., Legendre, L., 2015. Drivers of the winter–spring phytoplankton bloom in a pristine NW Mediterranean site, the Bay of Calvi (Corsica): A long-term study (1979–2011). *Progress in Oceanography* 137, 121-139.
- Goffart, A., Abadie, A., Gobert, S., Michel, L.N., Richir, R., Lejeune, P., submitted. Response of phytoplankton functional groups to recreational boating activities in the Calvi Bay (Corsica, NW Mediterranean).
- Gordon, L.I., Jennings, J.C., Ross, J., A.A., Krest, J.M., 1993. A suggested protocol for continuous flow automated analysis of seawater nutrients (phosphate, nitrate, nitrite and silicic acid) in the WOCE Hydrographic Program and the Joint Global Ocean Fluxes Study. WOCE Hydrographic Program Office, Methods Manual WHPO 91-1.
- Groffman, P.M., Baron, J.S., Blett, T., Gold, A.J., Goodman, I., Gunderson, L.H., Levinson, B.M., Palmer, M.A., Paerl, H.W., Peterson, G.D., Poff, N.L., Rejeski, D.W., Reynolds, J.F., Turner, M.G., Weathers, K.C., Wiens, J., 2006. Ecological Thresholds: The Key to Successful Environmental Management or an Important Concept with No Practical Application? *Ecosystems* 9, 1-13.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W.E., 1997. Phytoplankton pigments in oceanography. *Monographs on Oceanographic Methodology*, UNESCO Publishing, 661.
- Lampert, L., 2015. Test d'un Indice de composition pigmentaire pour les secteurs Atlantique et Manche (DCE). Scientifique et technique 2015-02. IFREMER, Brest.
- Lampert, L., Hernandez-Fariñas, T., 2018. Détermination d'un indice de composition phytoplanktonique pigmentaire pour les eaux de la Manche et de l'Atlantique (DCE) - Rapport final - Action ONEMA - IFREMER n°24. Brest, France, 66 pp.
- Latasa, M., Scharek, R., Vidal, M., Vila-Reixach, G., Gutiérrez-Rodríguez, A., Emelianov, M., Gasol, J.M., 2010. Preferences of phytoplankton groups for waters of different trophic status in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* 407, 27-42.
- Lehtinen, S., Suikkanen, S., Hällfors, H., Kauppila, P., Lehtiniemi, M., Tuimala, J., Uusitalo, L., Kuosa, H., 2016. Approach for Supporting Food Web Assessments with Multi-Decadal Phytoplankton Community Analyses—Case Baltic Sea. *Frontiers in Marine Science* 3.
- Mackey, M.D., J., M.D., Higgins, H.W., Wright, S.W., 1996. CHEMTAX - A program for estimating class abundances from chemical markers: Application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144, 265-283.
- Mantoura, R.F.C., Llewellyn, C.A., 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 151, 297-314.
- Marty, J.-C., Garcia, N., Raimbault, P., 2008. Phytoplankton dynamics and primary production under late summer conditions in the NW Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 55, 1131-1149.
- Roy, S., Llewellyn, C.A., Egeland, E.S., Johnsen, G.E., 2012. *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 845 pp.

- Singh, R., 2016. Chemotaxonomy: A Tool for Plant Classification. *Journal of Medicinal Plants Studies* 4, 90-93.
- Tett, P., Gowen, R.J., Painting, S.J., Elliott, M., Forster, R., Mills, D.K., Bresnan, E., Capuzzo, E., Fernandes, T.F., Foden, J., Geider, R.J., Gilpin, L.C., Huxham, M., McQuatters-Gollop, A.L., Malcolm, S.J., Saux-Picart, S., Platt, T., Racault, M.F., Sathyendranath, S., van der Molen, J., Wilkinson, M., 2013. Framework for understanding marine ecosystem health. *Marine Ecology Progress Series* 494, 1-27.
- Tréguer, P., Le Corre, P., 1975. Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Laboratoire d'Océanographie Chimique, Université de Bretagne Occidentale, Brest., 110 pp.
- Vidussi, F., Marty, J.-C., Chiavérini, J., 2000. Phytoplankton pigment variations during the transition from spring bloom to oligotrophy in the northwestern Mediterranean sea. *Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers* 47, 423-445.
- Zapata, M., Rodríguez, F., Garrido, J.L., 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195, 29-45.
- Zapata, M., Jeffrey, S.W., S.W., W., Rodríguez, F., Garrido, J.L., Clementson, L., 2004. Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy. *Marine Ecology Progress Series* 270, 83-102.

8. TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1. Message taxonomique apporté par les chlorophylles du phytoplancton marin, d'après l'ouvrage de référence de Roy et al. 2012.....	10
Tableau 2. Message taxonomique apporté par les caroténoïdes du phytoplancton marin utilisés dans cette étude, d'après l'ouvrage de référence de Roy et al. (2012).	10
Tableau 3. Matrices des rapports pigment / chl <i>a</i> optimisées par CHEMTAX pour des échantillons de phytoplancton méditerranéen. D'après Latasa et al. (2010).	13
Tableau 4. Types de masses d'eau présents en Rhône Méditerranée et Corse.....	15
Tableau 5. Evolution de l'échantillonnage simultané des sels nutritifs et des pigments pour les 15 sites étudiés.	16
Tableau 6. Liste des points de prélèvement pour la définition d'un indice de composition phytoplanctonique adapté aux eaux côtières de type 3W et 3W Islands (1/3).....	19
Tableau 7. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le site de référence de Calvi (2009-2014). Données haute fréquence (≈ 2 mesures par semaine); $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleures corrélations sont soulignées.	22
Tableau 8. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le site de référence de Calvi (2009-2014). Données bi-mensuelles; $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleures corrélations sont soulignées.	23

Tableau 9. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le site de référence de Calvi (2009-2014). Données mensuelles; $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleures corrélations sont soulignées.	23
Tableau 10. Coefficients de corrélation de Spearman (rho) entre les pigments et les nutriments pour le jeu de données Méditerranée. Données mensuelles; $\alpha = 0.05$. Pour chaque pigment, les meilleurs corrélations sont soulignées.	24
Tableau 11. Exemple d'un calcul de valeur de référence : site de Calvi, calcul de la référence « Fucoxanthine » pour le mois de janvier. Concentrations en ng L^{-1}	28
Tableau 12. Calcul du sous-indice fucoxanthine pour les points Sant'Amanza In et Tamarone.	30
Tableau 13. Valeurs de l'ICPP Médit et de ses sous-indices pour les sites étudiés.	30
Tableau 14. Matrice de corrélation de Spearman (rho) entre les valeurs de l'ICCP Médit et ses sous-indices et les sels nutritifs nutritifs moyennés sur les périodes d'étude. Les valeurs en rouge sont significatives.	32
Figure 1. Exemples de rapports chl a / pigment diagnostique pour la Méditerranée occidentale (d'après Claustre et al. 1994).	12
Figure 2. Equations permettant le calcul de la contribution respective des différents groupes phytoplanctoniques à la biomasse totale en Méditerranée. D'après A : Bustillos-Guzmán et al. (1995) et B : Vidussi et al. (2000).	13
Figure 3. Masses d'eau du bassin Rhône Méditerranée et Corse.	15
Figure 4. Points de prélèvement pour la définition d'un indice de composition phytoplanctonique : eaux côtières corses (A) et région PACA (B).	17
Figure 5. Représentation schématique de l'indice ICPP Médit.	25
Figure 6. Evolution temporelle de la Tch1 a des sites de référence de Calvi (A, données bi-mensuelles 2009-2014, $n = 12$ par mois), Sud Bastia (B, données mensuelles 2012-2017, $n = 3-6$ par mois) et Ile du Soleil (C, données 2016-2017, $n = 1-2$ par mois) : boîtes à moustaches et concentrations moyennes calculées sur base des données disponibles.	26
Figure 7. Evolution temporelle des pigments retenus pour l'indice de composition ICPP Médit au niveau du site de référence de Calvi (données bi-mensuelles 2009-2014, $n = 12$ par mois) : boîtes à moustaches et courbes de référence.	27
Figure 8. Evolution temporelle des pigments retenus pour l'indice de composition ICPP Médit au niveau du site de référence Sud Bastia (données mensuelles 2012-2017, $n = 3-6$ par mois) : boîtes à moustaches et courbes de référence.	27
Figure 9. Positionnement des concentrations en fucoxanthine des points Sant'Amanza In (2012-2013) et Tamarone (2017) par rapport à la courbe de référence associée (Sud Bastia, 2012-2017). ..	29

Figure 10. Grille de qualité pour les indices et sous-indices ICPP Médit.....30

Figure 11. Classement des points Méditerranée évalués par l'ICPP Médit.31

9. REMERCIEMENTS

Entre 2009 et 2014, l'échantillonnage a été réalisé par la station STARESO (Calvi, Corse) dans le cadre des suivis DCE Phytoplancton financés par l'IFREMER. Les prélèvements des points Sud Bastia, Sant'Amanza, Lazaret et Toulon grande rade ont été réalisés par l'IFREMER. Le point Ile du Soleil a été échantillonné par un sous-traitant de l'IFREMER.

10. GLOSSAIRE

IC Médit 2014 : indice de composition phytoplanctonique développé sur base des données des eaux côtières corses. Indice non finalisé élaboré par Goffart & Andral (2014).

ICPP Médit : Indice de Composition phytoplanctonique basé sur l'analyse des relations Pressions / Pigments et adapté aux eaux côtières méditerranéennes. Indice faisant l'objet de ce travail.

ICBC : indice de composition phytoplanctonique développé par Lampert & Hernandez-Fariñas (2018).

Avec le soutien financier de

AGENCE FRANÇAISE
POUR LA BIODIVERSITÉ
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT

www.agence-francaise-biodiversite.fr



www.uliege.be